

**POTENSI EKSTRAK N-HEKSAN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
LAMPUNG SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI (*Staphylococcus aureus*)
DAN (*Pseudomonas aeruginosa*)**

(Skripsi)

**Oleh :
ARINI PUSPITA SARI
1918031001**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

**POTENSI EKSTRAK N-HEKSAN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
LAMPUNG SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI
TERHADAP BAKTERI (*Staphylococcus aureus*)
DAN (*Pseudomonas aeruginosa*)**

**Oleh
Arini Puspita Sari**

**Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

**Pada
Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **POTENSI EKSTRAK N-HEKSAN KOPI ROBUSTA**
(*Coffea canephora*) LAMPUNG SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI TERHADAP
BAKTERI (*Staphylococcus aureus*) DAN
(*Pseudomonas aeruginosa*)

Nama Mahasiswa : Arini Puspita Sari

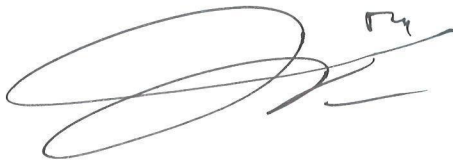
No. Pokok Mahasiswa : 1918031001

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

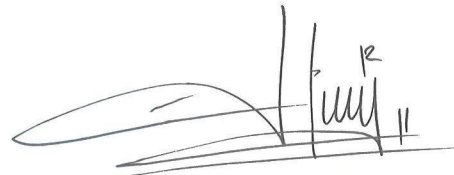
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



apt. Muhammad Iqbal, M.Sc

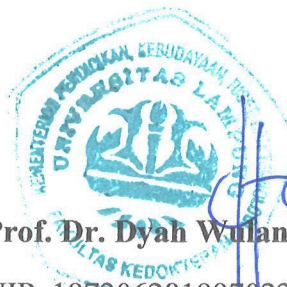
NIP. 198612052022031003



apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm

NIP. 199405182022032019

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, SKM., M.Kes

NIP. 197206281997022001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

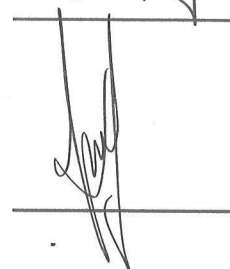
Ketua : apt. Muhammad Iqbal, M.Sc



Sekretaris : apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm



Penguji
Bukan Pembimbing : apt. Ramadhan Triyandi, M.Si



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, SKM., M.Kes
NIP. 197206281997022001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 15 Maret 2023

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

Skripsi dengan judul “**POTENSI EKSTRAK N-HEKSAN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) LAMPUNG SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI (*Staphylococcus aureus*) DAN (*Pseudomonas aeruginosa*)**” adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 15 Maret 2023

Pembuat Pernyataan



Arini Puspita Sari

NPM. 1918031001

RIWAYAT HIDUP

Arini Puspita Sari lahir di Gedongtataan pada tanggal 9 April 2002. Penulis lahir dari pasangan Bapak Joko Purnomo dan Ibu Sukarti dan merupakan anak pertama dari dua bersaudara yakni, Ali Yahya Hernowo. Penulis memiliki riwayat pendidikan sebagai berikut : TK Bina Karya Merak Belantung sejak tahun 2007 – 2008 kemudian di tahun 2008 – 2010 2014 melanjutkan Sekolah Dasar di SDN 02 Merak Belantung, 2010 – 2012 di SDN 02 Sukadadi, dan 2012 – 2014 di SDN 04 Cipadang, lalu melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMPN 19 Pesawaran pada tahun 2014 – 2017. Di tahun yang sama, penulis melanjutkan Sekolah Menengah Atas di SMAN 1 Gedongtataan dan lulus pada tahun 2019. Penulis diterima menjadi mahasiswa baru di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2019.

Penulis menjalani masa kuliah dengan aktif dalam beberapa perlombaan dan organisasi. Penulis berkesempatan menjadi juara 1 pada perlombaan *Literature riview Pharmalation* yang diadakan oleh Farmasi Universitas Lampung tahun 2020. Penulis diberi kesempatan untuk bergabung di organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi Universitas Lampung Selama 2 tahun sebagai Sekretaris dan Wakil Kepala departemen BnP.

SANWACANA

Puji syukur penulis sampaikan atas kehadiran Allah SWT, atas rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Potensi Ekstrak N-Heksan Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Lampung Sebagai Antioksidan dan Antibakteri Terhadap Bakteri (*Staphylococcus Aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*)”**. Shalawat beserta salam selalu tecurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, dorongan, kritik dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM. sebagai Rektor Universitas Lampung;
2. Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, S.K.M., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
3. dr. Oktafany, S.Ked., M.Pd.Ked selaku Kepala Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc. selaku Pembimbing Utama yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan dorongan kepada penulis. Terimakasih atas ilmu, arahan serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini dan selama penulis menjadi mahasiswa di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
5. apt. Ihsanti Dwi Rahayu, S.Farm., M.S.Farm selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta memberikan masukan dan dorongan kepada penulis. Terimakasih atas ilmu, arahan, serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini;

6. apt. Ramadhan Triyadi, S.Farm., M.Si selaku Pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta memberikan masukan dan dorongan kepada penulis. Terimakasih atas ilmu, arahan, serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini;
7. apt. Dwi Aulia Ramdini, S.Farm., M.Farm selaku Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan saran akademik dan nasihat dalam kehidupan di pendidikan kedokteran hingga akhir semester ini;
8. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan;
9. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyusunan skripsi ini;
10. Seluruh staf Laboratorium Kimia Analisis farmasi Fakultas Kedokteran Unila yang telah membantu selama proses penelitian di Laboratorium.
11. Seluruh staf Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah membantu selama proses keaslian sampel yang digunakan pada penelitian ini.
12. Ibu dan Bapak tercinta atas doa, dukungan, semangat, nasihat, perhatian yang sangat berarti dalam proses penyusunan skripsi ini. Terimakasih telah menguatkan dan menjadi orang tua yang sangat baik, perhatian, selalu siap siaga dalam memenuhi kebutuhan penulis serta menjadi support system terbaik bagi penulis;
13. Adik saya Nanang, mba Ratmi dan Naomi yang senantiasa membantu, bersedia menemani dan menghibur penulis hampir setiap hari dikala jenuh dan sedih, serta menjadi pendengar yang sangat baik;
14. Seluruh keluarga besar Bani Swito di Padang Ratu yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk tidak menyerah terhadap susahnya pendidikan tinggi;
15. Sahabat-sahabat sejawat, Tasya, Regi, Winda dan Luhut yang selalu memberikan motivasi, bantuan kepada penulis dan telah menjadi sahabat terbaik sekaligus keluarga selama di sini. Terimakasih telah menjadi teman curhat, teman main, teman belajar dan teman terbaik hingga kita bersama-sama berada sampai di tahap ini;

16. Teman-teman bintang seminung, Regi, Cindy dan Nanda, yang sudah menemani kehidupan penulis 24/7, teman suka dan duka, teman makan, teman kos, teman curhat, yang selalu siap untuk dihubungi ketika penulis butuhkan, selalu siap untuk menemani penulis dalam masa pengerjaan skripsi hingga selesai, selalu memberikan kontribusi terbaik dari segi doa, perhatian, dan dukungan kepada penulis. Terimakasih telah menjadi sahabat terbaik selama ini
17. Teman-teman, Irma, Hani, Elfa dan Ummu terimakasih atas kehadiran kalian dalam perjalanan kuliah ini. Terimakasih atas semua cerita menyenangkan bersama yang kita lalui dan membuat penulis dapat melupakan sejenak semua masalah, serta beban yang ada saat bertemu kalian.
18. DPA Hipokampus, terima kasih sudah menjadi keluarga pertama terbaik di FK Unila, pemberi solusi untuk setiap kendala yang dialami oleh penulis selama berkuliah di FK Unila;
19. Keluarga Ligamentum-Ligand, angkatan 2019, terima kasih untuk setiap tahun-tahun di FK Unila yang dilalui bersama dan akan terkenang oleh penulis, semoga kita sukses selalu;
20. HIMAFARSI Unila, yang telah memberikan ilmu dalam organisasi dan kenangan yang indah dalam perjuangan mahasiswa;
21. Departemen BnP yang telah memberikan banyak pelajaran, saling membantu, dan dukungan yang luar biasa hingga penulis sampai pada titik ini;
22. Seluruh kakak tingkat, adik tingkat, dan teman-teman yang telah menjadi teman baik dan membantu penulis selama di Fakultas Kedokteran serta memberikan dukungan dan motivasi selama ini;
23. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan penelitian ini.

Peneliti menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Peneliti berharap agar skripsi ini dapat dapat bermanfaat bagi orang banyak dan dapat menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 15 Maret 2023

Penulis

Arini Puspita Sari

﴿ بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ ﴾

-Bismillahirrahmanirrahim-

فَبِأَيِّ آلَاءِ رَبِّكُمَا تُكَذِّبَانِ

“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan”

(Lafadz yang diulang hingga 31 kali)

QS. Ar Rahman

*Sebuah persembahan sederhana untuk orang
yang paling aku sayangi;
Ibu, Bapak dan Adik*

-Arini-

ABSTRACT

POTENTIAL OF N-HEXAN EXTRACT OF ROBUSTA COFFEE (*Coffea canephora*) LAMPUNG AS ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL AGAINST BACTERIA (*Staphylococcus aureus*) AND (*Pseudomonas aeruginosa*)

By

Arini Puspita Sari

Background: Coffee has strong antioxidants and antibacterial properties which are also influenced by n-hexane extract. Researchers are interested in testing the antioxidant and antibacterial activity of Robusta coffee against (*Staphylococcus aureus*) and (*Pseudomonas aeruginosa*) bacteria..

Objective: The purpose of this study was to determine the potential contained in Lampung Robusta coffee's natural antioxidants to prevent oxidative stress based on natural ingredients and antibacterial agents against (*Staphylococcus aureus*) and (*Pseudomonas aeruginosa*) bacteria.

Method: The research design that will be used is an experimental laboratory research. The study was conducted from October 2022 to December 2022. The research sample used Lampung robusta coffee beans (*El's Coffee*) with the DPPH method and the Disc Diffusion Test method as a benchmark to determine the activity of N-hexane extract of robusta coffee (*Coffea canephora*) as an antioxidant and antibacterial against (*Staphylococcus aureus*) and (*Pseudomonas aeruginosa*) in vitro.

Results: The antioxidant test results obtained IC₅₀ of 447.36 ± 31.71 ppm with a total phenolic of 368.41 ± 31.26 µg GAE/ mg sample. In the antibacterial test the n-hexane extract of robusta coffee (*Coffea canephora*) did not show an inhibitory effect on both bacteria.

Conclusion: Lampung robusta coffee (*Coffea canephora*) n-hexane extract has a weak antioxidant effect but has a high total phenolic content. Can not inhibit the growth of (*Staphylococcus aureus*) and (*Pseudomonas aeruginosa*).

Keyword: N-hexane extract, robusta coffee, antioxidant, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRAK

POTENSI EKSTRAK N-HEKSAN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) LAMPUNG SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI (*Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*)

Oleh

Arini Puspita Sari

Latar Belakang: kopi memiliki antioksidan kuat dan antibakteri yang juga dipengaruhi ekstrak n-heksan, peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antioksidan dan antibakteri pada kopi robusta terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*).

Tujuan: Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui potensi yang terkandung di dalam kopi robusta Lampung antioksidan alami pencegah stress oksidatif berbasis bahan alam dan agen antibakteri terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*).

Metode: Rancangan penelitian yang akan dipakai adalah penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2022 sampai Desember 2022. Sampel penelitian menggunakan biji kopi robusta Lampung (*El's Coffee*) dengan metode DPPH dan metode Uji Difusi Cakram sebagai tolak ukur untuk mengetahui adanya aktivitas ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*) secara *in vitro*.

Hasil: Hasil uji antioksidan diperoleh IC₅₀ sebesar 447,36±31,71ppm dengan total fenolik sebesar 368,41±31,26 µg GAE/ mg sampel. Pada uji antibakteri ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) tidak menunjukkan efek penghambatan terhadap kedua bakteri.

Kesimpulan: Ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung memiliki efek antioksidan yang lemah namun memiliki kadar total fenolik yang tinggi. Tidak dapat menghambat pertumbuhan (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*).

Kata kunci: Ekstrak N-heksan, kopi robusta, antioksidan, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Bagi Peneliti	3
1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan dan Masyarakat.....	3
1.4.3 Bagi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kopi Robusta.....	6
2.1.1 Definisi Kopi.....	6
2.1.2 Sejarah Kopi.....	3
2.1.3 Taksonomi Kopi Robusta	8
2.1.4 Morfologi Kopi.....	9
2.1.5 Kandungan Kopi.....	10
2.2 Definisi Stres Oksidatif.....	11
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.3.1 Definisi <i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.3.2 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	18

2.3.3	Sejarah <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.3.4	Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.3.5	Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
2.4.1	Definisi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
2.4.2	Klasifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
2.4.3	Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
2.4.4	Patogenesis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
2.5	Antioksidan	24
2.5.1.	Definisi Antioksidan	24
2.5.2	Klasifikasi Antioksidan.....	26
2.5.3	Mekanisme Kerja Antioksidan.....	27
2.5.4	Uji Antioksidan	27
2.6	Ekstraksi dan Soxhletasi	29
2.6.1	Definisi Ekstraksi	29
2.6.2	Soxhlet	30
2.7	Ciprofloxacin.....	32
2.8	DMSO	33
2.9	Kerangka Teori.....	34
2.10	Kerangka Konsep	35
BAB III METODE PENELITIAN		36
3.1	Jenis Penelitian	36
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	36
3.2.1	Tempat Penelitian	36
3.2.2	Waktu Penelitian	37
3.3	Sampel dan Preparasi Sampel	37
3.3.1	Sampel	37
3.3.2	Preparasi Sampel	37
3.4	Bahan dan Alat Penelitian.....	38
3.4.1	Bahan Penelitian.....	38
3.4.2	Alat Penelitian	38
3.5	Prosedur Penelitian	39

3.5.1	Determinasi Tanaman	39
3.5.2	Pemilihan Kopi Robusta	39
3.5.3	Pengekstrakan Kopi Robusta dengan metode soxhletasi.....	39
3.5.4	Analisis kualitatif Fitokimia.....	40
3.5.5	Pengukuran Total Fenolik	42
3.5.6	Pengukuran Aktivitas Antioksidan	43
3.5.7	Aktivitas Antibakteri dengan Uji Difusi Cakram.....	44
3.6	Variabel Penelitian	44
3.6.1	Variabel Bebas	44
3.6.2	Variabel Terikat.....	45
3.7	Analisis Data	45
3.8	Diagram Alur Penelitian	46
3.8.1	Pembuatan Ekstrak Menggunakan Metode Soxhletasi.....	46
3.8.2	Pengukuran Total Fenolik.....	47
3.8.3	Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	48
3.8.4	Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		50
4.1	Hasil.....	50
4.1.1	Determinasi Tanaman	50
4.1.2	Uji Kualitatif Fitokimia	50
4.1.3	Uji Aktivitas Antibakteri.....	51
4.1.4	Uji Antioksidan Dan Total Fenolik	52
4.2	Pembahasan.....	52
4.2.1	Uji Kualitatif Fitokimia	52
4.2.2	Uji Aktivitas Antibakteri.....	53
4.2.3	Uji Antioksidan dan Total Fenolik	55
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		61
5.1	Kesimpulan	61
5.2	Saran	61
DAFTAR PUSTAKA.....		63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	9
Gambar 2. Penyakit terkait stres oksidatif	12
Gambar 3. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan	12
Gambar 4. Reaksi ROI dan RNI dengan protein, karbohidrat, dan lipid, dengan konsekuensi perubahan baik dalam homeostasis intraseluler dan interseluler sampai kemungkinan kematian dan regenerasi sel	13
Gambar 5. Stres oksidatif dan hubungannya dengan pensinyalan redoks.	15
Gambar 6. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Gambar 7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
Gambar 8. Klasifikasi Antioksidan.....	26
Gambar 9. Ekstraksi Soxhlet	32
Gambar 10. Kerangka Teori.....	34
Gambar 11. Kerangka Konsep	35
Gambar 12. Bagan Pembuatan Ekstrak.....	46
Gambar 13. Bagan Pengukuran Total Fenolik	47
Gambar 14. Bagan Pengukuran Aktivitas Antioksidan	48
Gambar 15. Bagan Pengujian Aktivitas Antibakteri	49
Gambar 16. Efek penghambatan ekstrak n-heksan biji kopi robusta Lampung terhadap bakteri terhadap	51
Gambar 17. Bakteri gram negatif	54
Gambar 18. Bakteri gram positif	54

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Macam-macam Uji Antioksidan.	29
Tabel 2. Uji kualitatif ekstrak n-heksan kopi robusta Lampung	50
Tabel 3. Uji antioksidan dan total fenolik ekstrak n-heksan kopi robusta.....	52
Tabel 4. uji antioksidan kopi dari berbagai tempat	58
Tabel 5. Kapasitas antioksidan dan total fenolik ekstrak air bubuk kopi robusta dengan sistem ekstraksi.....	58
Tabel 6. Uji antioksidan dengan berbagai metode.....	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Hasil Determinasi Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	72
Lampiran 2. Grafik Uji Antioksidan.....	74
Lampiran 3. Uji Total Fenol.....	75
Lampiran 4. Dokumentasi.....	75
Lampiran 5. hasil uji kualitatif fitokimia ekstrak n-heksan kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	76

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kerusakan oksidatif sebagai kondisi merugikan yang terjadi di semua sistem kehidupan dan timbul dari ketidakseimbangan antara spesies oksidan dan pertahanan antioksidan (Filomeni et al., 2015). Kerusakan oksidatif terlibat dalam banyak penyakit degeneratif, seperti kanker, stroke, aterosklerosis, infark miokard, gagal jantung, penyakit Parkinson, penyakit Alzheimer, sindrom X rapuh, *Chronic Fatigue Syndrome* (CFS) atau sindrom kelelahan akut, hipertensi, diabetes, dan kegemukan (Xu & Li, 2014). Kerusakan oksidatif disebabkan karena adanya radikal bebas yang dikendalikan oleh kadar antioksidan dan pembentukan radikal bebas yang berlebihan serta penghilangan yang tidak memadai oleh antioksidan (Xu & Li, 2014).

Penyakit degeneratif merupakan penyakit tidak menular yang berlangsung kronis. Kontributor utama terjadinya penyakit degeneratif kronis adalah pola hidup yang tidak sehat seperti kebiasaan merokok, minum alkohol, pola makan dan obesitas, aktivitas fisik yang kurang, stres, dan pencemaran lingkungan (Handajani et al., 2010). Penyakit degeneratif yang diperparah dengan adanya infeksi bakteri masih menjadi masalah utama di berbagai negara, terutama di negara berkembang yang masih banyak digunakan tumbuh tumbuhan sebagai pengobatan utama (Handajani et al., 2010).

(*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*) adalah bakteri gram positif dan gram negatif yang masih menjadi penyebab utama penyakit infeksi. (*Staphylococcus aureus*) dapat menyebabkan berbagai macam penyakit mulai dari infeksi kulit yang cukup parah hingga pneumonia dan sepsis yang fatal. Pengobatan (*Staphylococcus aureus*) infeksi dapat diperparah dengan adanya kondisi resistensi antibiotik maupun kondisi vaksin yang berfungsi tidak tersedia (Cheung et al., 2021). Infeksi dengan (*Pseudomonas aeruginosa*) telah menjadi perhatian nyata pada infeksi yang didapat di rumah sakit, terutama pada pasien yang sakit kritis dan (*immunocompromised*). (*Pseudomonas aeruginosa*) merupakan kolonisasi paling sering pada alat kesehatan (kateter, nebulizer, humidifier) dan merupakan salah satu patogen penyebab infeksi nosokomial, seperti (*ventilator associated pneumonia*), (*meningoencephalitis*), dan sepsis. Masalah utama yang menyebabkan kematian yang tinggi terletak pada munculnya strain yang resisten terhadap obat (Bassetti et al., 2018). Menurut laporan analisis epidemiologi klinis, (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*) telah menjadi infeksi nosokomial dan strain resistensi antibiotik yang paling umum, dengan tingkat infeksi setinggi 50% (Su et al., 2015). Dengan demikian resistensi terhadap antibiotik masih banyak terjadi, maka dari itu diperlukan alternatif yang lebih aman untuk dikonsumsi secara jangka panjang seperti alternatif yang berasal dari bahan alam.

Kopi robusta (*Coffea canephora*) termasuk komoditas unggulan di Provinsi Lampung baik sebagai komoditas ekspor maupun konsumsi lokal terutama dari jenis kopi Robusta (*Coffea canephora*) (Klorogenat et al., 2017). Kopi mempunyai dua jenis utama, yaitu kopi arabika dan kopi robusta (*Coffea canephora*). Namun, produksi kopi Robusta (*Coffea canephora*) (93%) jauh lebih besar dibandingkan kopi Arabika (7%). Karena kopi Robusta (*Coffea canephora*) lebih banyak diminati daripada kopi Arabika. Hal ini diakibatkan karena rasa kopi robusta (*Coffea canephora*) yang lebih enak dan kualitas hasil panen yang lebih baik

daripada kopi Arabika (Lestari et al., 2017). Kopi mengandung fenol yang tinggi, terutama asam klorogenat yang berperan sebagai modulasi respon imun, dan antioksidan. Kopi Robusta (*Coffea canephora*) merupakan jenis kopi dengan kadar asam klorogenat dan kandungan kafein tinggi yang berpotensi sebagai antioksidan (Rosyidi et al., 2020).

Kopi memiliki kandungan aktif fenolik terbesar 1300-3700 mg dalam 100 gram kopi dengan golongan utama asam klorogenat (CGA) sebanyak 4-14% yang berfungsi sebagai imunomodulator, antioksidan dan anti inflamasi (Rosyidi et al., 2020). Kandungan asam klorogenat dalam kopi Robusta lebih tinggi (7,1-12,1%) dari asam klorogenat dalam kopi Arabika (6,7-9,2%) (Rosyidi et al., 2020). Ekstrak fraksinasi daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) memiliki efektivitas sebagai antibakteri khususnya, terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus*) (Zamharira Muslim & Yonaniko Dephinto, 2019).

Penggunaan fraksi heksana, etil asetat, etanol, menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki efektivitas sebagai antibakteri yang lebih baik jika dibandingkan dengan fraksi lainnya. Daya hambat pertumbuhan bakteri yang dihasilkan oleh fraksi etil asetat adalah pada konsentrasi 15% ($17,28 \pm 1,15$ mm) (Zamharira Muslim & Yonaniko Dephinto, 2019). Penelitian sebelumnya tentang pengujian aktivitas antioksidan kulit biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A.Froehner) membuktikan bahwa ekstrak fraksi n-heksan, etil asetat, dan air memiliki efektivitas sebagai antioksidan. Fraksi etil asetat ekstrak kulit biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A.Froehner) merupakan fraksi yang memiliki nilai antioksidan lebih baik jika dibandingkan fraksi n-heksan, dan fraksi air pada metode DPPH (Activity et al., 2019).

Berdasarkan uraian di atas, kopi memiliki antioksidan kuat dan antibakteri yang juga dipengaruhi ekstrak n-heksan. Dan saat ini belum banyak penelitian tentang kandungan antioksidan dan antibakteri pada kopi robusta (*Coffea canephora*) di daerah Lampung menggunakan metode soxhletasi dengan pelarut n-heksan. Maka dari itu peneliti tertarik untuk

menguji aktivitas antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Apakah ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki khasiat sebagai antibakteri dan antioksidan?
2. Bagaimanakah potensi aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung?
3. Bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diekstraksi dengan metode soxhletasi terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus*)?
4. Bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diekstraksi dengan metode soxhletasi terhadap bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui efektivitas yang terkandung di dalam kopi robusta (*Coffea canephora*) antioksidan alami pencegah stress oksidatif berbasis bahan alam dan agen antibakteri terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diekstraksi dengan metode soxhletasi.

2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diekstraksi dengan metode soxhletasi.
3. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diekstraksi dengan metode soxhletasi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Sebagai informasi dasar untuk mengetahui potensi yang terkandung di dalam kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung sebagai antibakteri dan antioksidan agar dapat dilakukan penelitian lebih lanjut.

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan dan Masyarakat

Untuk memberikan informasi mengenai potensi yang terkandung di dalam kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antibakteri dan antioksidan.

1.4.3 Bagi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi

Sebagai sumber ilmu tambahan mengenai potensi yang terkandung di dalam kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antibakteri dan antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi Robusta

2.1.1 Definisi Kopi

Tanaman kopi (*kopi sp.*) termasuk dalam famili (*Rubiaceae*) yang merupakan tanaman tropis dan banyak dikonsumsi sebagai minuman non-alkohol di seluruh dunia. Sesuai laporan *Indonesia Coffee and Cocoa Research Institute (ICRI)*, Indonesia merupakan negara penghasil kopi terbesar ketiga di dunia setelah Brazil dan Vietnam (Rante et al., 2021). Kopi (*kopi sp.*) adalah minuman yang banyak dikonsumsi dengan dua varietas populer yang ditanam di seluruh dunia yaitu arabika (kopi arabika) dengan 57% produksi kopi global dan kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan 43% dari produksi kopi global. Menurut USDA (Departemen Pertanian Amerika Serikat), pada 2019-2020 Indonesia berbagi 6,10% produksi kopi dunia dengan total produksi 0,642 juta ton. Di Indonesia, biji kopi, terutama kopi robusta (*Coffea canephora*), terutama diproduksi di enam provinsi penting yaitu Sumatera Selatan, Lampung, Bengkulu, Sumatera Utara, Jawa Timur, dan Sulawesi Selatan (Suhandy & Yulia, 2021).

Kopi merupakan salah satu minuman yang paling banyak dikonsumsi di dunia. Berdasarkan data *International Coffee Organization (ICO)*, tingkat konsumsi kopi dunia pada tahun 2015

mencapai 152,2 juta per 60 kg kopi dan mengalami peningkatan rata-rata tahunan sebesar 2% sejak 2011.

Dalam empat tahun terakhir, konsumsi kopi di Indonesia terus meningkat sebesar 36% dari tahun 2010 hingga 2014, dengan total konsumsi 1,03 kg/ kapita/tahun pada tahun 2014. Jenis kopi yang banyak dibudidayakan antara lain kopi arabika (kopi arabika) dan Robusta (*Coffea canephora*) (Vignoli et al., 2011). Indonesia merupakan salah satu produsen dan eksportir kopi Robusta (*Coffea canephora*) terbesar di dunia. Hal ini dikarenakan kondisi iklim yang cocok untuk budidaya kopi robusta (*Coffea canephora*). Selain itu, kopi Robusta (*Coffea canephora*) memiliki keunggulan tahan terhadap penyakit serta memiliki aroma dan rasa yang paling kuat di antara jenis kopi lainnya (Ni'mah et al., 2021).

2.1.2 Sejarah Kopi

Kopi telah dikonsumsi selama lebih dari 1.000 tahun dan saat ini merupakan minuman yang paling banyak dikonsumsi di dunia (lebih dari 400 miliar cangkir per tahun). Naskah paling kuno yang menyebutkan budaya kopi berasal dari tahun 575 di Yaman, tetapi baru pada abad XVI di Persia, biji kopi pertama dipanggang untuk diubah menjadi minuman yang kita kenal sekarang. Kopi mulai dinikmati di Eropa pada tahun 1615, dibawa oleh para pelancong. Jerman, Prancis, dan Italia sedang mencari cara untuk mengembangkan perkebunan kopi di koloni mereka (Mussatto et al., 2011), tetapi orang Belanda-lah yang mendapatkan bibit pertama dan menanamnya di tungku kebun raya Amsterdam, fakta yang menjadikan minuman itu salah satu yang paling banyak dikonsumsi di benua tua dan menjadi bagian definitif dari kebiasaan orang Eropa. Selanjutnya, orang Prancis diberi tanaman kopi oleh mayor Amsterdam, dan mereka mulai bercocok tanam di pulau Sandwich dan Bourbon. Dengan pengalaman Belanda dan Prancis, budidaya kopi dibawa ke koloni Eropa lainnya.

Pertumbuhan pasar Eropa mendukung perluasan perkebunan kopi di negara-negara Afrika dan juga melalui penjajah Eropa kopi mencapai Puerto Rico, Kuba, Suriname, São Domingos, dan Guianas (Mussatto et al., 2011).

Melalui Guyana, kopi tiba di utara Brasil. Kemudian, rahasia bangsa Arab disebarkan ke seluruh dunia. Pohon kopi atau semak milik keluarga *Rubiaceae*. Biji kopi dihasilkan dari tanaman kopi yang ada lebih dari 70 spesies. Namun, hanya dua dari spesies ini yang dieksplorasi secara komersial di seluruh dunia yakni Kopi arabika (*Arabica*), dianggap sebagai yang paling mulia dari semua tanaman kopi dan menyediakan 75% dari produksi dunia dan Kopi robusta (*Coffea canephora*), dianggap lebih asam tetapi lebih tahan terhadap wabah, dan menyediakan 25% dari produksi dunia. arabika adalah semak yang berasal dari Ethiopia dan berkembang dengan baik di dataran tinggi (600–2.000 m), sementara *Coffea canephora* perkebunan beradaptasi dengan baik di ketinggian di bawah 600 m (Mussatto et al., 2011).

2.1.3 Taksonomi Kopi Robusta

Menurut (Dwi Riastuti et al., 2021) Klasifikasi kopi berdasarkan tingkatan taksonominya :

Kingdom : *Plantae*

Sub Kingdom : *Tracheobionta*

Super Divisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Sub Kelas : *Asteridae*

Ordo : *Rubiales*

Famili : *Rubiaceae*

Genus : *Coffea L.*

Spesies : *Coffea canephora Pierre ex Froehner*

2.1.4 Morfologi Kopi

Daun kopi memiliki bentuk bulat telur, berombak, mengkilap, bergaris ke samping, bergelombang, kekar, hijau pekat, dan meruncing dibagian ujungnya. Pertulangan daun menyirip serta memiliki satu pertulangan terbentang dari pangkal ujung hingga terusan dari tangkai daun. Batangnya berkayu, tumbuh tegak ke atas memiliki warna putih keabu-abuan. Batang pokok memiliki ruas-ruas yang tampak jelas pada saat tanaman masih muda. Memiliki bunga dengan ukuran yang relatif kecil, mahkota berwarna putih dan berbau harum. Waktu yang diperlukan untuk terbentuknya bunga hingga menjadi buah matang sekitar 8-11 bulan, tergantung dari jenis dan faktor lingkungan. Buah tanaman kopi tersusun atas daging buah dan biji. Daging buah terdiri atas tiga bagian yaitu lapisan kulit luar (*eksokarp*), lapisan daging (*mesokarp*), dan lapisan kulit tanduk (*endocarp*) yang tipis dan keras serta berakar tunggang (Sari et al., 2020). Gambar dapat dilihat pada gambar 2.4 di bawah ini :



Gambar 1. Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

(Sumber: <https://bit.ly/3rmZnm>)

2.1.5 Kandungan Kopi

Kopi mengandung ratusan fitokimia aktif biologis lainnya, termasuk polifenol seperti asam klorogenat dan lignan, trigonelline alkaloid, melanoidin yang terbentuk selama pemanggangan, dan sejumlah kecil magnesium, kalium, dan vitamin B (niasin). Senyawa kopi ini dapat mengurangi kerusakan oksidatif, meningkatkan mikrobioma usus, dan memodulasi glukosa dan metabolisme lemak (van Dam et al., 2020). Dari segi kimia, *Coffea canephora* menunjukkan berbagai macam konstituen kimia, termasuk asam caffeic, *p*-asam coumaroylquinic, asam klorogenat (*3-HAI-caffeoylquinic acid*), asam neochlorogenic (*5-HAI-caffeoylquinic acid*), asam kriptoklorogenik (*4-HAI -asam caffeoylquinic*), *3-HAI-asam feruloylquinic*, *5-HAI-asam feruloylquinic*, *4-HAI-feruloyl-5-caffeoylquinic acid*, dan kafein (Rante et al., 2021).

Biji kopi secara alami mengandung berbagai jenis senyawa volatil seperti aldehida, furfural, keton, alkohol, ester, asam format, dan asam asetat. Senyawa kimia pada biji kopi dapat dibedakan atas senyawa volatil dan non volatil. Senyawa volatil adalah senyawa yang mudah menguap, terutama jika terjadi kenaikan suhu. Senyawa volatil yang berpengaruh terhadap aroma kopi antara lain golongan aldehid, keton dan alkohol, sedangkan senyawa non volatil yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein, *chlorogenic acid* dan senyawa-senyawa nutrisi. Senyawa nutrisi pada biji kopi terdiri dari karbohidrat, protein, lemak, dan mineral. (Hastuti, 2018). Senyawa metabolit sekunder seperti (*1,3,7-Trimethylpurine-2,6-dione*) (kafein) dan senyawa polifenol dari kopi yang memiliki sifat antimikroba. Penelitian lebih lanjut juga melaporkan adanya flavonoid dan polifenol dari kopi yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap (*Staphylococcus*

aureus) (Rante et al., 2021). Aktivitas antimikroba dari ekstrak robusta menentukan bahwa ekstrak kopi menghambat bakteri gram positif dan gram negatif dan tidak menghambat pertumbuhan jamur dan ragi (Mewaba et al., 2022).

Kopi memiliki kandungan aktif fenolik terbesar 1300-3700 mg dalam 100 gram kopi dengan golongan utama asam klorogenat (CGA) sebanyak 4-14% yang berfungsi sebagai imunomodulator, antioksidan dan anti inflamasi. Kandungan biji kopi robusta (*Coffea canephora*) adalah kandungan kafein sebesar 2%, minyak atsiri 10-16%, asam klorogenat 6-10%, gula 4%, selulosa 22-27%, polifenol 0,2% (Rosyidi et al., 2020). Senyawa kafein (C₈H₁₀N₄O₂) adalah bagian dari senyawa alkaloid yang mempunyai nama kimia (1,3,7-trimethylxanthine) (1,3,7-trimethyl-1Hpurine-2, 6(3H, 7H)-dione). Senyawa kafein tersebut yang salah satunya didapatkan dari konsumsi minuman kopi bubuk adalah senyawa yang dapat berfungsi untuk meningkatkan performa fisik, daya konsentrasi dan memori (Budi et al., 2020). Berdasarkan penelitian sebelumnya, kandungan asam klorogenat dalam kopi Robusta (*Coffea canephora*) 7,1-12,1% lebih tinggi dari asam klorogenat dalam kopi arabika sebesar 6,7-9,2% (Rosyidi et al., 2020).

2.2 Definisi Stres Oksidatif

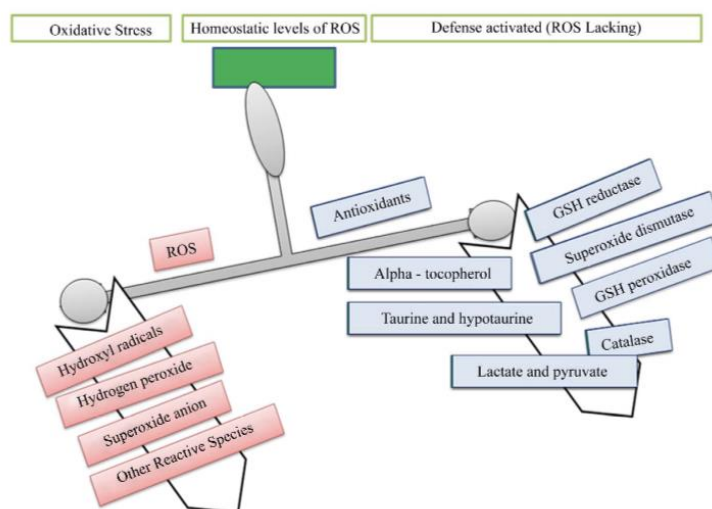
Kata "stres", dikombinasikan dengan "oksidatif", pertama kali digunakan dalam relaksasi stres oksidatif suatu bahan dan berhubungan dengan elastisitas karet. Istilah "stres oksidatif" pertama kali disebutkan dalam literatur biologi pada tahun 1970 (Azzi, 2022). Stres oksidatif didefinisikan sebagai "ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang mendukung oksidan, yang mengarah pada gangguan pensinyalan dan kontrol redoks dan/ atau kerusakan molekul" (Sies, 2020). Ketika radikal bebas memiliki peran yang mungkin dalam, dan dianggap sebagai agen utama dari banyak penyakit, (Gambar 2) stres oksidatif adalah konsep

yang sangat disambut baik yang menghubungkan peran merusak radikal bebas dengan peran protektif antioksidan endogen dan eksogen (Azzi, 2022).



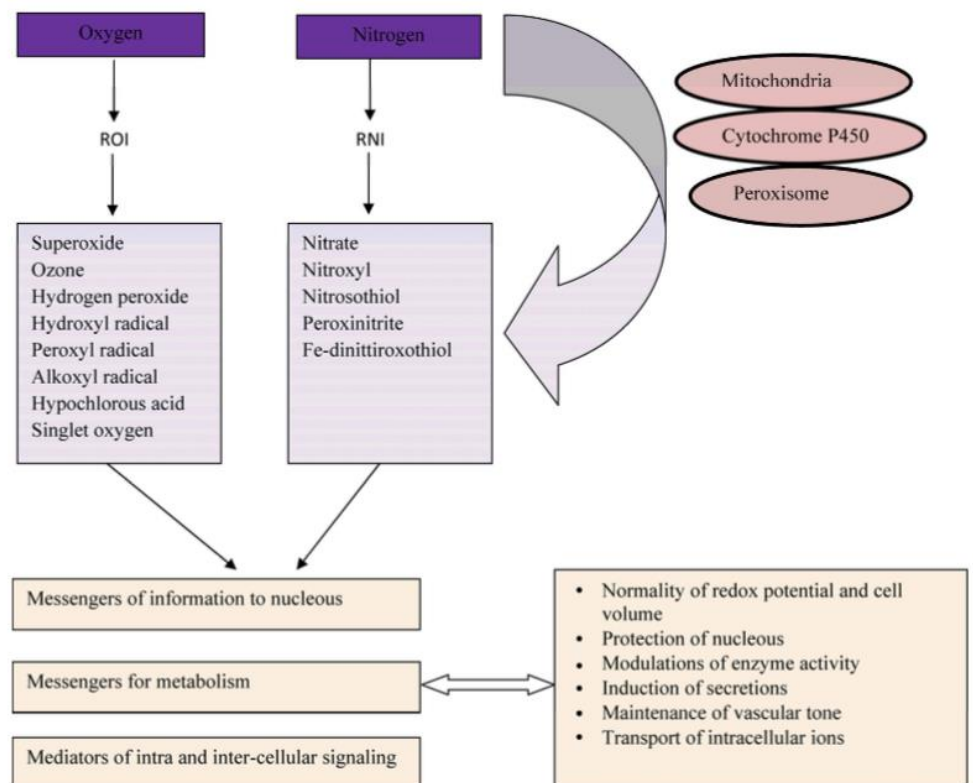
Gambar 2. Penyakit terkait stres oksidatif (Azzi, 2022).

Stres oksidatif terjadi saat radikal bebas dan zat aktif dalam suatu sistem melebihi kemampuan sistem untuk menetralsir dan menghilangkannya (Rahman et al., 2012).



Gambar 3. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan (Rahman et al., 2012).

Konsep "stres oksidatif" saat ini juga harus mencakup jalur yang terkait dengan "stres nitrosatif" dan, untuk implikasinya dalam peristiwa metabolisme seluler dan ekstraseluler, ke "stres metabolik". Intermediet oksigen reaktif (ROI) dan intermediet nitrogen reaktif (RNI) secara konstan diproduksi dalam kondisi fisiologis, adalah peristiwa penting dalam organisme hidup. Saat ini, konsep stres oksidatif terbatas pada ROI seperti radikal hidroksil dan superoksida, dan hidrogen peroksida dan oksigen singlet telah diperluas ke RNI seperti oksida nitrat (NO), peroksinitrit dan, baru-baru ini, untuk S-nitrosothiol. Dengan demikian, ROI dan RNI bereaksi dengan protein, karbohidrat dan lipid, dengan konsekuensi perubahan baik dalam homeostasis intraseluler dan interseluler, yang menyebabkan kemungkinan kematian dan regenerasi sel (Rahman et al., 2012).



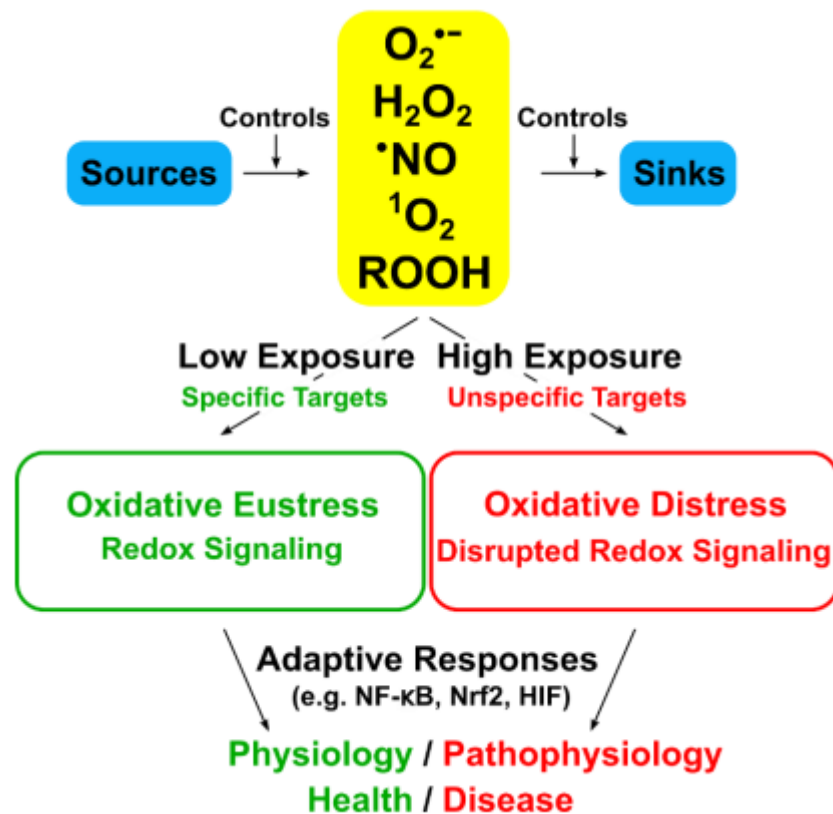
Gambar 4. Reaksi ROI dan RNI dengan protein, karbohidrat, dan lipid, dengan konsekuensi perubahan baik dalam homeostasis intraseluler dan

inter seluler sampai kemungkinan kematian dan regenerasi sel (Rahman et al., 2012).

Konsep global "Kerusakan Oksidatif" didefinisikan sebagai "ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang mendukung oksidan, yang mengarah pada gangguan pensinyalan dan kontrol redoks dan/ atau kerusakan molekuler". Ini telah berkembang dari formulasi awal pada tahun 1985 untuk menggabungkan pengetahuan baru tentang peran pensinyalan redoks. Ide dasarnya adalah bahwa, dalam sistem metabolisme terbuka, keseimbangan redoks kondisi mapan dipertahankan pada *setpoint* tertentu, yang memberikan nada redoks basal, dan bahwa penyimpangan dari keseimbangan redoks kondisi mapan dianggap sebagai stres, memulai menekankan tanggapan (Sies, 2020). "Stres oksidatif: konsep dalam biologi dan kedokteran redoks", itu didefinisikan sebagai "ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang mendukung oksidan, yang mengarah pada gangguan pensinyalan dan kontrol redoks dan atau kerusakan molekuler". (Azzi, 2022).

Tersirat dalam definisi stres oksidatif adalah:

1. Bahwa penyimpangan ke sisi berlawanan dari keseimbangan adalah "stres reduktif",
2. Bahwa ada penyimpangan fisiologis "eustress oksidatif", dan penyimpangan suprafisiologis "stres oksidatif"(Sies, 2020).



Gambar 5. Stres oksidatif dan hubungannya dengan pensinyalan redoks (Sies, 2020).

Stres oksidatif dan hubungannya dengan pensinyalan redoks melalui, paparan oksidan fisiologis (rendah) ditujukan pada target spesifik (sangat reaktif), sedangkan paparan suprafisiologis (tinggi) ditujukan pada target yang tidak spesifik. Oksidan penting lebih lanjut dihasilkan dalam reaksi sekunder; misalnya, ONOOH, dari $O_2^{\bullet-}$ dan $\bullet NO$, atau HOCl, dari H_2O_2 dan Cl^- (Sies, 2020). Stres oksidatif adalah fenomena yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara produksi dan akumulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam sel dan jaringan dan kemampuan sistem biologis untuk mendetoksifikasi produk reaktif. ROS dapat memainkan dan melakukan, beberapa peran fisiologis (yaitu, pensinyalan sel), dan mereka biasanya dihasilkan sebagai produk sampingan dari metabolisme oksigen; meskipun demikian, stresor lingkungan (yaitu, UV, radiasi pengion, polutan, dan logam berat)

dan xenobiotik (yaitu, obat antitumor) berkontribusi sangat meningkatkan produksi ROS, sehingga menyebabkan ketidakseimbangan yang mengarah pada kerusakan sel dan jaringan (stres oksidatif) (Pizzino et al., 2017).

Stres oksidatif memainkan peran kunci dalam menyebabkan berbagai penyakit manusia, seperti nekrosis seluler, penyakit kardiovaskular, kanker, gangguan saraf, demensia Parkinson, penyakit Alzheimer, penyakit radang, distrofi otot, gangguan hati, dan bahkan penuaan (Brar et al., 2014). Stres oksidatif mengacu pada ketidakseimbangan antara radikal bebas dan agen penstabilnya enzim antioksidan dalam tubuh. Spesies oksigen reaktif atau radikal bebas dapat diproduksi oleh metabolisme sel normal dan bereaksi dengan biomolekul seperti protein, lipid, dan DNA untuk menyebabkan kerusakan sel dan bertanggung jawab atas perubahan degeneratif. Pada konsentrasi rendah radikal bebas memainkan peran penting dalam regulasi fisiologis dan proses pensinyalan seluler tetapi tingkat tinggi dapat menyebabkan perubahan yang merusak dalam sel (Leverve, 2009).

Stres oksidatif didefinisikan oleh ketidakseimbangan antara peningkatan kadar spesies oksigen reaktif (ROS) dan aktivitas mekanisme antioksidan yang rendah. Peningkatan stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan pada struktur seluler dan berpotensi merusak jaringan. Namun, ROS dibutuhkan untuk fungsi sel yang memadai, termasuk produksi energi oleh mitokondria. Peningkatan stres oksidatif telah dicurigai dalam kondisi fisiologis, seperti penuaan dan olahraga, dan dalam beberapa kondisi patologis, termasuk kanker, penyakit neurodegeneratif, penyakit kardiovaskular, diabetes, penyakit inflamasi, dan keracunan (Preiser, 2012). Stres oksidatif merupakan kerusakan sel dan organ

yang utuh. Stress oksidatif secara tradisional, didefinisikan oleh tiga kategori perubahan biologis yaitu: (Ji & Yeo, 2021).

1. Deteksi generasi *Reactive Oxygen Nitrogen Species* (RONS)
2. Menggambarkan perubahan (biasanya penurunan) kapasitas pertahanan antioksidan seluler.
3. Berkaitan dengan biomarker stress oksidatif, sering disebut sidik jari atau jejak kaki yang mencerminkan modifikasi oksidatif dari berbagai makromolekul.

2.3 *Staphylococcus aureus*

2.3.1 Definisi *Staphylococcus aureus*

(*Staphylococcus aureus*) adalah patogen oportunistik yang biasanya menjajah (*nares anterior*) manusia (Kwiecinski & Horswill, 2020). (*Staphylococcus aureus*) tidak membentuk spora tetapi dapat menyebabkan kontaminasi produk makanan selama persiapan dan pemrosesan makanan. (*Staphylococcus aureus*) dapat tumbuh dalam berbagai suhu (7° ke 48.5°C; optimal 30 hingga 37°C), pH (4,2 hingga 9,3 optimum 7 hingga 7,5), dan konsentrasi natrium klorida hingga 15% NaCl. (*Staphylococcus aureus*) adalah organisme yang toleran terhadap desikasi dengan kemampuan untuk bertahan hidup di lingkungan yang berpotensi kering dan stres, seperti hidung manusia dan pada kulit dan permukaan benda mati seperti pakaian dan permukaan. Karakteristik ini mendukung pertumbuhan organisme di banyak produk makanan. (*Staphylococcus aureus*) dapat tetap hidup di tangan dan permukaan lingkungan untuk waktu yang lama setelah kontak awal (Lin et al., 2016).

(*Staphylococcus aureus*) adalah bakteri yang menyebabkan keracunan makanan, suatu bentuk gastroenteritis dengan timbulnya gejala yang cepat. (*Staphylococcus aureus*) umumnya ditemukan di lingkungan (tanah, air dan udara) dan juga ditemukan di hidung

dan pada kulit manusia (Conley et al., 2006). Infeksi (*Staphylococcus aureus*) didefinisikan oleh isolasi (*Staphylococcus aureus*) dari tempat tubuh yang biasanya steril (misalnya, darah, cairan serebrospinal, cairan pleura atau peritoneal, aspirasi jaringan dalam yang diperoleh secara aseptik, atau sampel jaringan bedah) (Kang et al., 2011).

2.3.2 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri (*Staphylococcus aureus*) sebagai berikut: (Dewi., 2013).

Domain : *Bacteria*
Kingdom : *Eubacteria*
Ordo : *Eubacteriales*
Famili : *Micrococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.3.3 Sejarah *Staphylococcus aureus*

(*Staphylococcus aureus*) pertama kali diidentifikasi pada tahun 1880 dan diisolasi dari nanah abses bedah oleh ahli bedah Skotlandia Sir Alexander Ogston. Ogston adalah orang pertama yang menggambarkan infeksi piogenik pasca operasi yang terkait dengan mikroorganisme yang ia gambarkan sebagai 'mikrokokus'. Penampilan bakteri seperti anggur, berbentuk lingkaran dan tersusun dalam kelompok, membuat Ogston menamakannya (*Staphylococcus*), yang berasal dari kata Yunani (*staphyle*) artinya seikat anggur dan (*kokkos*) artinya *berry*. Berdasarkan uraian susunannya, (*staphylococcus*) dibedakan dari (*streptococcus*), yang

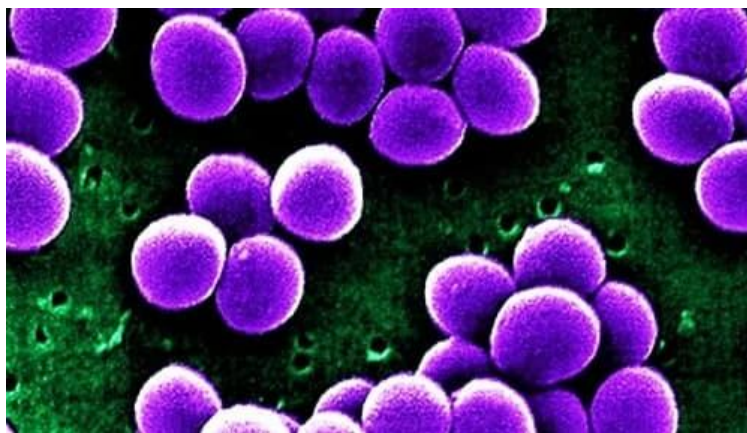
tersusun dalam rantai dan juga menyebabkan infeksi pasca operasi (Rasheed et al., 2021).

Pada tahun 1881, Ogston melakukan tes laboratorium eksperimental untuk menyelidiki infeksi terkait kulit yang disebabkan oleh: (*Staphylococcus aureus*) dengan menginokulasi (*Staphylococcus*) ke dalam jaringan subkutan hewan laboratorium seperti marmut dan mencit, yang menyebabkan abses. Dokter Jerman Friedrich Rosenbach mengisolasi dan membiakkan (*Staphylococcus*) dari manusia pada tahun 1884. Dia mempelajari karakteristik mereka dan mengkategorikannya sesuai dengan produksi koloni emas atau kekuningan, menamai spesiesnya (Rasheed et al., 2021). (*aureus*) dari kata Latin yang berarti emas, akibatnya, (*Staphylococcus aureus*) dibedakan dari (*Staphylococcus epidermidis*) (sebelumnya dikenal sebagai (*S. albus*) dengan koloni emas dan putihnya masing-masing (Rasheed et al., 2021).

2.3.4 Morfologi *Staphylococcus aureus*

(*Staphylococcus aureus*) merupakan bakteri berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1 mikron, bergerombol menyerupai untaian anggur, gram positif, tidak membentuk spora, non motil, beberapa strain yang langsung diambil dari penderita membentuk semacam kapsul, koloni berwarna kuning emas, hemolisis pada blood agar, dapat tumbuh dalam media dengan konsentrasi NaCl hingga 15% (pada media MSA berwarna kuning) (Tyasningsih et al., 2010). koloni *Staphylococcus aureus* dicirikan oleh penampilannya yang besar, halus, dan menonjol dengan warna kuning keemasan. Warna kuning disebabkan oleh staphyloxanthin (karotenoid) yang dihasilkan oleh bakteri yang menutupi dan melindungi mikroorganisme dari fagositosis (Rasheed et al., 2021).

(*Staphylococcus aureus*) ditumbuhkan pada media selektif, seperti agar garam manitol yang mengandung 7,5-10% natrium klorida, sebagai (*Staphylococcus aureus*) adalah toleran garam. Warna merah muda medium berubah menjadi kuning selama fermentasi mikroorganisme terhadap gula manitol, yang menghasilkan asam dan mengubah warna medium. Ini dapat digunakan untuk membedakan (*Staphylococcus aureus*) dari (*Staphylococcus epidermidis*), fermentor non-mannitol (Rasheed et al., 2021). Gambar bakteri dapat dilihat pada gambar 2.2 dibawah ini:



Gambar 6. *Staphylococcus aureus*
(Sumber : <https://bit.ly/3rmMGZC>)

2.3.5 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Ciri khas infeksi yang disebabkan oleh (*Staphylococcus aureus*) adalah radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung menjadi abses. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan ialah furunkel pada kulit dan impetigo pada anak-anak. Infeksi superfisial ini dapat menyebar (metastatik) ke jaringan yang lebih dalam menimbulkan osteomielitis, artritis, endokarditis dan abses pada otak, paru-paru, ginjal serta kelenjar mammae. Pneumonia yang disebabkan (*Staphylococcus aureus*) merupakan suatu infeksi sekunder setelah infeksi virus influenza. (*Staphylococcus aureus*) dikenal sebagai bakteri yang paling sering mengkontaminasi luka pasca bedah sehingga menimbulkan

komplikasi. Sumber pencemaran pada infeksi pasca bedah ini diantaranya berasal dari penderita carrier yaitu dokter, perawat atau petugas kesehatan yang terlibat dalam perawatan dan pembedahan pasien dan peralatan medis yang terkontaminasi. Bila terjadi bakterimia, infeksi dapat bermetastasis ke berbagai organ (Deleo et al., 2009). Patogenesis infeksi (*Staphylococcus aureus*) merupakan hasil interaksi berbagai protein permukaan bakteri dengan berbagai reseptor pada permukaan sel inang. Penentuan faktor virulen mana yang paling berperan sulit dilakukan karena banyaknya dan beragamnya faktor virulensi yang dimiliki (*Staphylococcus aureus*) (Deleo et al., 2009).

2.4 *Pseudomonas aeruginosa*

2.4.1 Definisi *Pseudomonas aeruginosa*

(*Pseudomonas aeruginosa*) adalah patogen oportunistik gram negatif dan model bakteri untuk mempelajari virulensi dan sifat sosial bakteri. Meskipun dapat diisolasi dalam jumlah rendah dari berbagai lingkungan termasuk tanah dan air, ia dapat dengan mudah ditemukan di hampir semua lingkungan yang terkena dampak manusia/ hewan (Diggle & Whiteley, 2020). (*Pseudomonas aeruginosa*) merupakan salah satu penyebab infeksi yang paling umum di lingkungan rumah sakit. Infeksi ini berhubungan dengan morbiditas yang signifikan dan pengeluaran perawatan kesehatan, terutama ketika penerimaan terapi antibiotik yang tepat tertunda (Nesteruk et al., 2011).

2.4.2 Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Klasifikasi (*Pseudomonas aeruginosa*): (Diggle & Whiteley, 2020).

Kingdom : *Bacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Kelas : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Pseudomonadales*
Famili : *Pseudomonadaceae*
Genus : *Pseudomonas*
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

2.4.3 Morfologi *Pseudomonas aeruginosa*

(*Pseudomonas aeruginosa*) adalah bakteri heterotrofik, motil, gram negatif, berbentuk batang dengan panjang sekitar 1-5 m dan lebar 0,5-1,0 m. Aerob fakultatif yang tumbuh dengan respirasi aerobik dan respirasi anaerobik dengan nitrat sebagai akseptor elektron terminal. (*Pseudomonas aeruginosa*) juga dapat tumbuh secara anaerobik dengan (*arginine*) memiliki kapasitas fermentasi terbatas, tetapi ini umumnya didukung pertumbuhan sangat lambat atau tidak tumbuh sama sekali (Diggle & Whiteley, 2020).

Lebih dari 100 molekul organik dapat digunakan sebagai sumber karbon dan/ atau energi dan sebagai prototrof, umumnya memiliki kemampuan untuk tumbuh pada media pertumbuhan garam minimal dengan satu sumber karbon dan energi (Diggle & Whiteley, 2020). (*Pseudomonas aeruginosa*) tumbuh baik pada 37°C tetapi dapat bertahan pada rentang suhu yang rentang suhunya 4-42°C. Ini adalah bakteri tanah penting yang dapat melakukan pemecahan hidrokarbon aromatik polisiklik, sering ditemukan di dalamnya juga (Diggle & Whiteley, 2020). Gambar bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*) dapat dilihat pada gambar 2.3 berikut:



Gambar 7. *Pseudomonas aeruginosa*
 Sumber : <https://bit.ly/3CqnKHc>

2.4.4 Patogenesis *Pseudomonas aeruginosa*

(*Pseudomonas aeruginosa*) adalah patogen oportunistik dan sebagian besar Infeksi (*Pseudomonas aeruginosa*) terjadi pada individu. Individu yang sakit sangat rentan terhadap infeksi (*Pseudomonas aeruginosa*) (Nesteruk et al., 2011). Sumber asli infeksi organisme dan, dalam banyak kasus, rute infeksi yang tepat tidak diketahui pada kebanyakan pasien. Penularan terkait pengobatan. Perawatan kesehatan biasanya terjadi dari pasien ke pasien di tangan staf. Melalui kontak langsung antara rumah sakit, reservoir dan pasien, dengan menelan makanan atau air yang terkontaminasi. Dalam kebanyakan kasus, invasi adalah dari (*Pseudomonas aeruginosa*). Pada manusia, itu terjadi melalui rute oral atau pernapasan dan kolonisasi sering mendahului infeksi terbuka (Nesteruk et al., 2011).

Etiologi infeksi (*Pseudomonas aeruginosa*) paling sering terjadi setelah invasi inang. Itu terjadi dalam tiga tahap: pertama perlekatan dan fiksasi bakteri, kedua invasi lokal, dan yang ketiga penyebaran sistemik dan penyakit. Proses ini sering terjadi di lingkungan yang dibatasi integritas. penghalang anatomi alami untuk invasi bakteri (misalnya kulit, selaput lendir) atau melewatinya serta perangkat media (misalnya kateter vena sentral, kateter kandung kemih, intratrakeal). (*Pseudomonas aeruginosa*) memiliki banyak faktor imun bawaan dan didapat yang

memungkinkan dia untuk mengatasi. Pembentukan pertahanan host dan infeksi (Nesteruk et al., 2011).

2.5 Antioksidan

2.5.1. Definisi Antioksidan

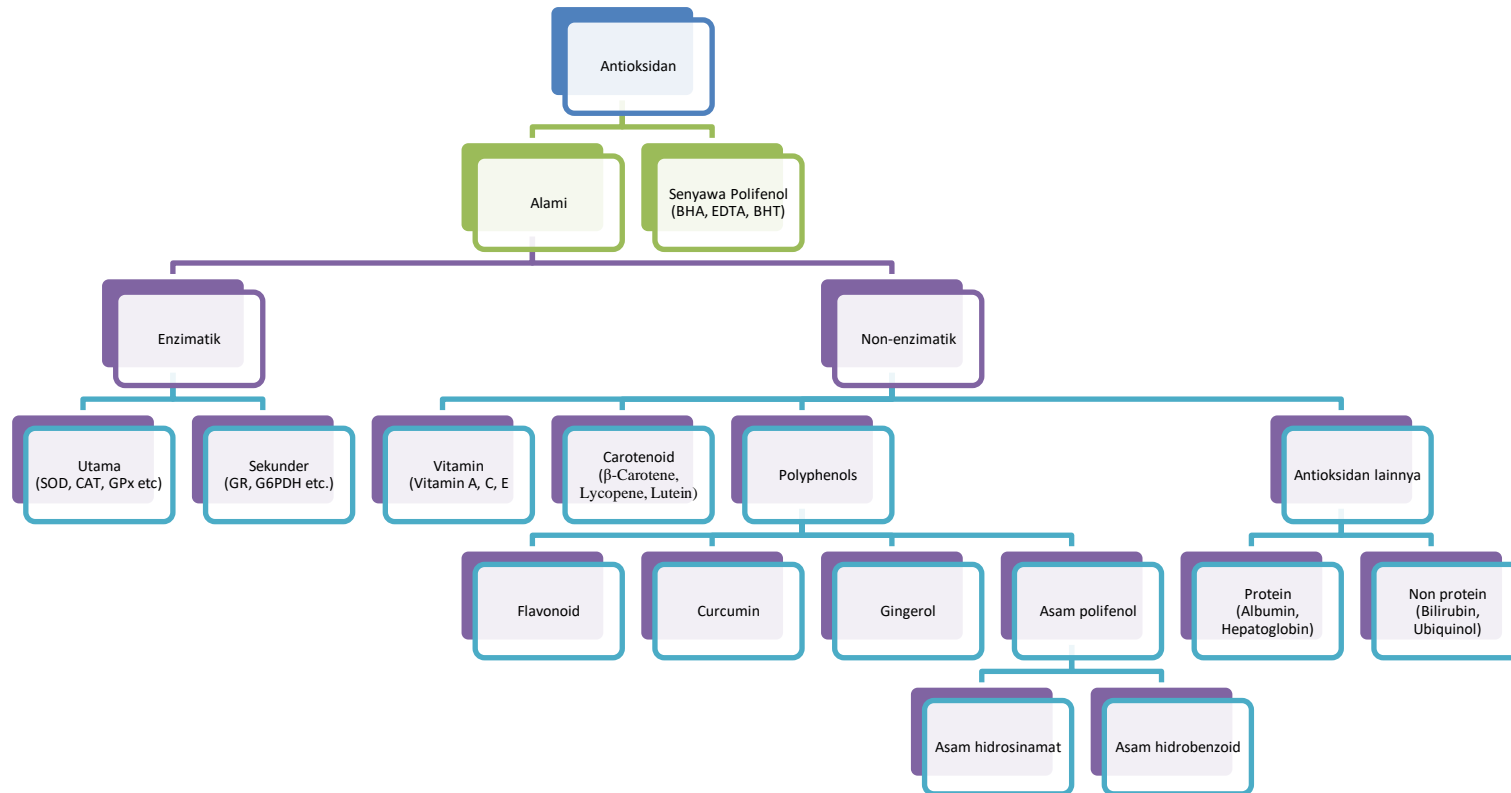
Antioksidan adalah kelas zat kimia yang secara alami ditemukan dalam makanan kita yang dapat mencegah atau mengurangi stres oksidatif pada sistem fisiologis. Tubuh terus-menerus memproduksi radikal bebas karena penggunaan oksigen secara teratur. Radikal bebas ini bertanggung jawab atas kerusakan sel dalam tubuh dan berkontribusi terhadap berbagai macam masalah kesehatan, seperti penyakit jantung, diabetes, degenerasi makula, dan kanker. (Brar et al., 2014). Antioksidan adalah zat yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan berinteraksi dengan dan menstabilkan radikal bebas dan dapat mencegah beberapa kerusakan yang mungkin disebabkan oleh radikal bebas. Kerusakan radikal bebas dapat menyebabkan kanker. Contoh antioksidan termasuk beta-karoten, likopen, vitamin C, E, A dan zat lainnya (Chemistry, 2010).

Antioksidan adalah molekul yang mampu memperlambat atau mencegah oksidasi molekul lain. Oksidasi adalah reaksi kimia yang mentransfer elektron dari suatu zat ke agen pengoksidasi. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas, yang memulai reaksi berantai yang merusak sel. Antioksidan mengakhiri reaksi berantai ini dengan menghilangkan intermediet radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi lainnya dengan mengoksidasi diri mereka sendiri. Akibatnya, antioksidan sering menjadi agen pereduksi seperti tiol, asam askorbat atau polifenol (Chemistry, 2010). Antioksidan menjadi pengais radikal bebas yang fantastis membantu dalam mencegah dan memperbaiki kerusakan sel yang

disebabkan oleh radikal ini (Brar et al., 2014). Antioksidan adalah cara alami untuk mempertahankan sel dari serangan ROS. Tubuh kita secara alami mengedarkan berbagai nutrisi untuk sifat antioksidannya dan memproduksi enzim antioksidan untuk mengendalikan reaksi berantai yang merusak ini. Misalnya vitamin C, vitamin E, karoten, dan asam lipoat (Dontha, 2016).

2.5.2 Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis utama berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan alami dan sintetis (Brar et al., 2014).



Gambar 8. Klasifikasi Antioksidan (Brar et al., 2014).

2.5.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

Low molecular weight antioxidants (LMWAs) atau antioksidan dengan berat molekul rendah adalah molekul kecil yang sering menyusup ke dalam sel, terakumulasi pada konsentrasi tinggi di kompartemen tertentu yang terkait dengan kerusakan oksidatif, dan kemudian diregenerasi oleh sel. Dalam jaringan manusia, LMWAs seluler diperoleh dari berbagai sumber yaitu Glutathione (GSH), *nicotinamide adenine dinucleotide* (bentuk tereduksi), dan carnosine disintesis oleh sel asam urat (UA) dan bilirubin adalah produk sisa metabolisme sel asam askorbat (AA), tokoferol dan polifenol adalah antioksidan yang diperoleh dari makanan (Haedi, 2022). Beberapa memiliki rentang hidup yang sangat pendek, pada hitungan nano detik, sehingga sulit bagi antioksidan untuk hadir pada waktu dan tempat di mana kerusakan oksidatif sedang dihasilkan. Selain itu, reaksi antara antioksidan dan radikal bebas adalah reaksi orde kedua. Oleh karena itu, tidak hanya bergantung pada konsentrasi antioksidan dan radikal bebas tetapi juga tergantung pada faktor-faktor yang berkaitan dengan struktur kimia dari kedua reagen, media dan kondisi reaksi (Francenia Santos-Sánchez et al., 2019).

2.5.4 Uji Antioksidan

Berdasarkan reaksi kimia yang terlibat antara senyawa antioksidan dan radikal bebas, uji antioksidan secara luas diklasifikasikan menjadi : (Dontha, 2016).

1. Uji berbasis reaksi transfer atom hidrogen (HAT)

Tes ini mengukur/mengukur kemampuan menyumbangkan atom hidrogen dari senyawa antioksidan dengan reaksi ET berpasangan proton, di mana ia mengukur kapasitas antioksidan pemutus rantai. Pengujian ini didasarkan pada reaksi antara generator radikal bebas sintetik, probe molekuler

yang dapat dioksidasi, dan oksidan di mana kinetika reaksi diturunkan dari kurva kinetik. Tes berbasis HAT yaitu :

1. Kapasitas penyerapan radikal oksigen (ORAC)
 2. Metode pengais radikal (ABTS)
 3. Tes pemutihan Crocin (CBA)
 4. Parameter antioksidan penjebak radikal total (TRAP)
 5. Aktivitas Pengaisan radikal hidroksil
 6. Kapasitas pencegahan radikal hidroksil (HORAC)
 7. Uji kapasitas penghambatan LPO (LPIC)
 8. Pengaisan radikal H-O
 9. Pengambilan oksigen terhambat (IOC)
 10. Uji Photochemiluminescence (PCL)
 11. Uji -karoten–asam linoleat (linoleat) (Dontha, 2016).
2. Uji berbasis reaksi transfer elektron (ET).
- Tes ini mengukur kapasitas reduksi senyawa antioksidan. Ini didasarkan pada reaksi redoks sederhana, di mana senyawa antioksidan mengurangi radikal bebas dan teroksidasi. Reduksi oleh senyawa antioksidan mengakibatkan perubahan warna. Tes berbasis ET yaitu : (Dontha, 2016).
1. Uji pengaisan radikal bebas DPPH
 2. Uji pengaisan radikal anion superoksida
 3. Daya antioksidan pereduksi ion besi (FRAP)
 4. Kapasitas antioksidan ekivalen Trolox (TEAC), menggunakan ABTS
 5. Uji kapasitas antioksidan pengurang ion tembaga (CUPRAC).
 6. Reagen *Folin-Ciocalteu* (FCR), uji total fenol
 7. Mengurangi uji daya
 8. Uji N,N-dimetil-p-fenilendiamin (DMPD)
 9. TIDAK ADA aktivitas penghambatan radikal
 10. Uji zat reaktif asam tiobarbiturat (TBARS) (Dontha, 2016).

Ada berbagai macam metode pengujian antioksidan, yaitu:

Tabel.1 Macam-macam Uji Antioksidan (Shahidi & Zhong, 2015).

Uji Antioksidan	Aktivitas	Prinsip Metode	Produk Akhir Penentuan
Spektrometri			
DPPH		Reaksi antioksidan dengan radikal organik	Kolorimetri
PFRAP		Pengurangan kalium	Kolorimetri
FRAP		Reaksi antioksidan dengan kompleks Fe (III)	Kolorimetri
ABTS		Reaksi oksidan dengan radikal kation organik	Kolorimetri
CUPRAC		Reduksi Cu (II) menjadi Cu (I) oleh antioksidan	Kolorimetri
Fluorimetri		Emisi cahaya oleh zat yang telah menyerap radiasi elektromagnetik lain dari panjang gelombang yang berbeda.	Rekaman dari eksitasi fluoresensi/ spektrum emisi
HORAC		Kapasitas antioksidan untuk memadamkan radikal OH yang dihasilkan oleh system mirip Fenton berbasis Co (II)	Hilangnya fluoresensi fluorescein
TRAP		Kapasitas antioksidan untuk mengais radikal turunan luminol, yang dihasilkan dari dekomposisi AAPH	Kemiluminesensi pendingin
ORAC		Reaksi antioksidan dengan radikal peroksil, diinduksi oleh AAPH (2,2-azobis-2amidino-propana)	Hilangnya fluoresensi fluorescein

2.6 Ekstraksi dan Soxhletasi

2.6.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah langkah pertama untuk memisahkan produk alami yang diinginkan dari bahan baku. Metode ekstraksi meliputi ekstraksi pelarut, metode distilasi, pengepresan dan sublimasi sesuai dengan prinsip ekstraksi (Zhang et al., 2018). Ekstraksi bahan tumbuhan ialah proses penting dalam isolasi senyawa tumbuhan alami dan pemurniannya. Matriks tanaman secara alami bersifat kompleks, mengandung berbagai macam senyawa yang memiliki berbagai sifat fisik dan kimia (Azmir et al., 2013).

Ekstraksi merupakan pemisahan bagian tumbuhan yang berkhasiat obat dengan menggunakan prosedur yang selektif dan baku. Ini

adalah langkah pertama yang penting dalam analisis tanaman obat, karena itu diperlukan untuk mengekstrak komponen kimia yang diinginkan dari bahan tanaman untuk pemisahan dan karakterisasi lebih lanjut (Rasul, 2018). Ekstrak yang diperoleh dapat siap untuk digunakan sebagai bahan obat dalam bentuk tingtur dan ekstrak cair, dapat diproses lebih lanjut untuk digabungkan dalam bentuk sediaan seperti tablet atau kapsul, atau dapat difraksinasi untuk mengisolasi entitas kimia individu. seperti ajmalisin, *hyoscine* dan *vincristine*, yang merupakan obat modern. Dengan demikian, standarisasi prosedur ekstraksi memberikan kontribusi yang signifikan terhadap kualitas akhir obat herbal (Zhang et al., 2019).

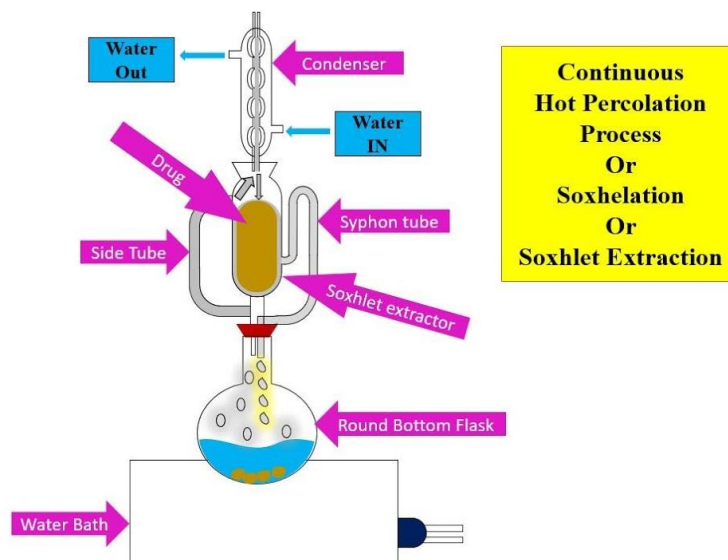
Pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai merupakan proses dari ekstraksi. Proses ekstraksi dihentikan saat tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelahnya, pelarut akan dipisahkan dari sampel melalui penyaringan. Ekstrak pertama akan sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Maka dari itu ekstrak awal harus dipisahkan kedalam fraksi yang mempunyai polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhtarini, 2014). Adapun jenis-jenis metode ekstraksi digunakan seperti maserasi, *infuse*, digesti, perkolasi, *reflux*, destilasi uap, kromatografi lapis tipis, dekoktasi, soxhlet, dan fraksinasi (Mukhtarini, 2014). Namun, pada penelitian ini akan menggunakan metode soxhlet untuk mengekstraksi sampel.

2.6.2 Soxhlet

Metode ekstraksi Soxhlet mengintegrasikan keuntungan dari ekstraksi refluks dan perkolasi, yang memanfaatkan prinsip refluks dan menyedot untuk terus mengekstrak ramuan dengan pelarut segar. Ekstraksi Soxhlet adalah metode ekstraksi kontinu otomatis dengan efisiensi ekstraksi tinggi yang membutuhkan lebih sedikit

waktu dan konsumsi pelarut. (Zhang et al., 2018). Keuntungan dari metode ini, adalah bahwa sejumlah besar obat dapat diekstraksi dengan jumlah pelarut yang jauh lebih kecil. Hal ini mempengaruhi ekonomi yang luar biasa dalam hal waktu, energi dan input keuangan akibatnya. Pada skala kecil, ini digunakan sebagai proses *batch* saja, tetapi menjadi jauh lebih ekonomis dan layak ketika diubah menjadi prosedur ekstraksi berkelanjutan pada skala menengah atau besar (Swami Handa et al., 2008).

Ekstraksi Soxhlet adalah jenis ekstraksi kontinu komponen dari campuran padat. Pelarut mendidih naik melalui lengan samping yang lebih besar. Setetes pelarut yang kental jatuh ke dalam cangkir berpori, melarutkan komponen yang diinginkan dari campuran padat. Ketika lengan samping yang lebih kecil terisi hingga meluap, ia memulai tindakan menyedot. Pelarut, yang mengandung komponen terlarut, disedot ke dalam boiler di bawah pelarut sisa kemudian mengalir keluar dari cangkir berpori, karena tetesan pelarut baru terus jatuh ke dalam cangkir berpori. Dan siklus itu berulang (Patel et al., 2019). Peralatan soxhlet adalah unit refluks kaca khusus yang terutama digunakan untuk ekstraksi pelarut organik. Bahan padat bubuk ditempatkan dalam bidal yang terbuat dari kertas saring dan ditempatkan di dalam peralatan soxhlet. Peralatan dipasang ke labu alas bulat yang berisi pelarut dan kondensor refleks. Pelarut dalam labu alas bulat dididihkan, uap melewati tabung samping, dikondensasikan oleh kondensor dan jatuh ke bidal yang berisi bahan dan perlahan mengisi soxhlet. Ketika pelarut mencapai bagian atas tabung yang terpasang, ia menyedot ke dalam labu, sehingga menghilangkan bagian dari zat yang telah diekstraksi (Rasul, 2018). Dapat dilihat pada Gambar.9



Gambar 9. Ekstraksi Soxhlet
(Sumber : <https://images.app.goo.gl/szBhv2oJjRWmjnf09>)

2.7 Ciprofloxacin

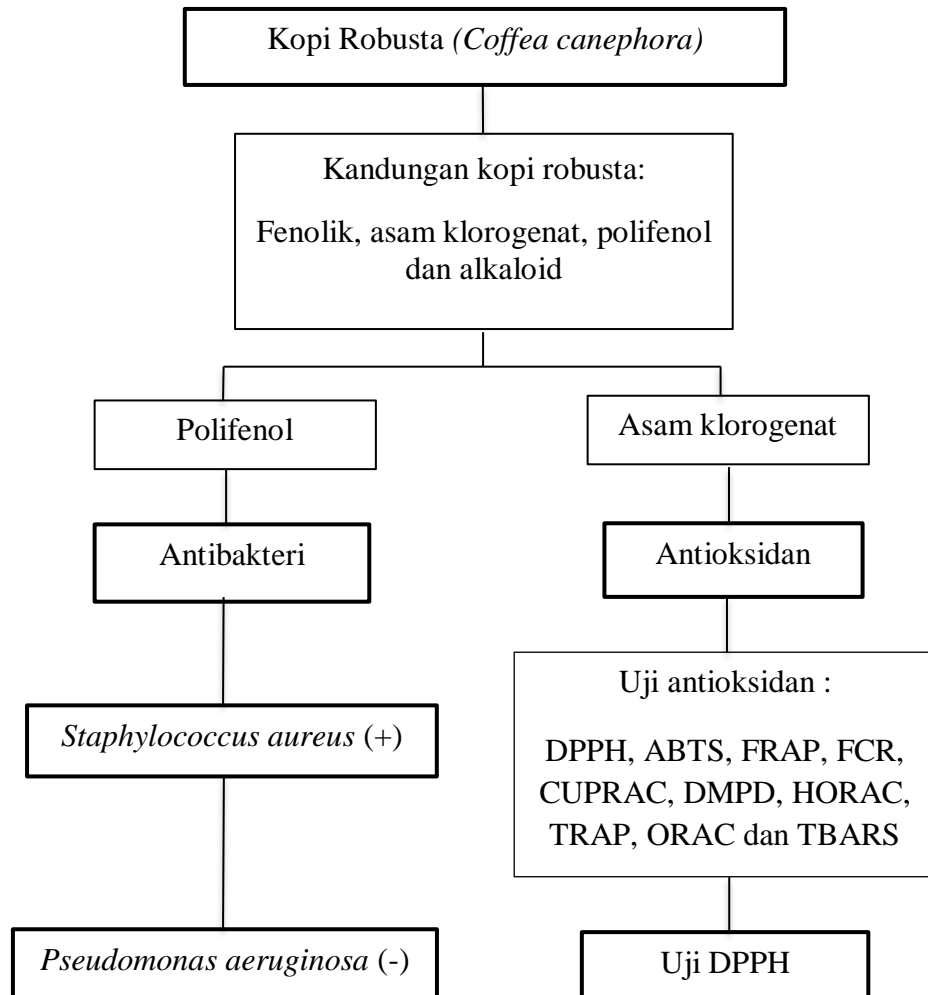
Ciprofloxacin merupakan antibiotik *broad spectrum* golongan quinolone yang digunakan untuk mengatasi infeksi karena bakteri seperti infeksi saluran nafas, saluran kencing dan saluran pencernaan. Ciprofloxacin tidak dapat mengatasi batuk, inveksi virus atau flu. Obat ini bekerja dengan cara menghambat enzim topoisomerase IV dan DNA gyrase yang diperlukan oleh bakteri untuk memperbanyak diri. Dengan begitu, bakteri tidak dapat berkembang biak dan lebih mudah untuk dibasmi oleh sistem kekebalan tubuh. Ciprofloxacin tersedia dalam berbagai bentuk sediaan, seperti bentuk tablet dan cairan suntik atau infus. Untuk mengatasi infeksi mata atau telinga, ciprofloxacin juga dapat ditemukan dalam sediaan tetes mata dan tetes telinga. Ciprofloxacin dapat berinteraksi dengan vitamin, suplemen yang mengandung besi atau zinc serta susu. Penggunaan obat Ciprofloxacin sebaiknya diberi jarak 2 jam sebelum minum vitamin, suplemen, susu atau 4 jam setelah minum vitamin, suplemen. Ciprofloxacin dapat berinteraksi dengan antasida, warfarin, dan theophylline. Apabila sedang menggunakan obat-obatan tersebut, konsultasikan ke dokter (Drugs.com).

2.8 DMSO

DMSO atau dimetil sulfoksida adalah senyawa organosulfur dengan rumus kimia $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$. DMSO merupakan pelarut polar aprotik yang dapat melarutkan baik senyawa polar maupun nonpolar, dan larut dalam berbagai pelarut organik maupun air. Dimetil sulfoksida merupakan cairan yang memiliki ciri-ciri tidak berwarna, tidak berbau, agak higroskopik; pelarut bagi bahan uji anorganik dan organik Dimetil sulfoksida dikenal sebagai krioprotektan konvensional yang ditambahkan ke media sel untuk mencegah kematian sel sepanjang proses pembekuan. Titik beku dimetil sulfoksida tinggi pada suhu kamar merupakan suatu padatan yang berperan dalam beberapa proses kimia seperti kristalisasi pada waktu cooling. Konstanta dielektrik DMSO sangat tinggi, yaitu mencapai nilai 47. Hal ini mengakibatkan DMSO menjadi pelarut universal yang unik (Jacob dan de la Torre, 2015). DMSO adalah salah satu pelarut organik paling kuat yang dapat melarutkan berbagai bahan organik dan polimer secara efektif (Gaylord Chemical Company, 2017). DMSO larut dalam air dan berbagai cairan organik lainnya, seperti alkohol, ester, keton, pelarut terklorinasi, dan hidrokarbon aromatic (Jacob dan de la Torre, 2015).

Berbeda dengan air, DMSO merupakan pelarut aprotik dipolar, yaitu pelarut yang bukan berperan sebagai pendonor proton melainkan lebih cenderung menerima proton. DMSO juga merupakan senyawa amfifilik, senyawa yang memiliki karakteristik baik hidrofilik maupun hidrofobik. Oleh karena itu, DMSO juga dikenal sebagai surfaktan (*surface-active molecules*) yang dapat berperan sebagai *interface* antara air dan minyak. Namun, tidak seperti surfaktan lainnya, DMSO bersifat netral. DMSO tidak bersifat asam atau basa karena pelarut tersebut tergolong sebagai pelarut aprotik (Jacob dan de la Torre, 2015).

2.9 Kerangka Teori



Gambar 10. Kerangka Teori (Rosyidi et al., 2020).

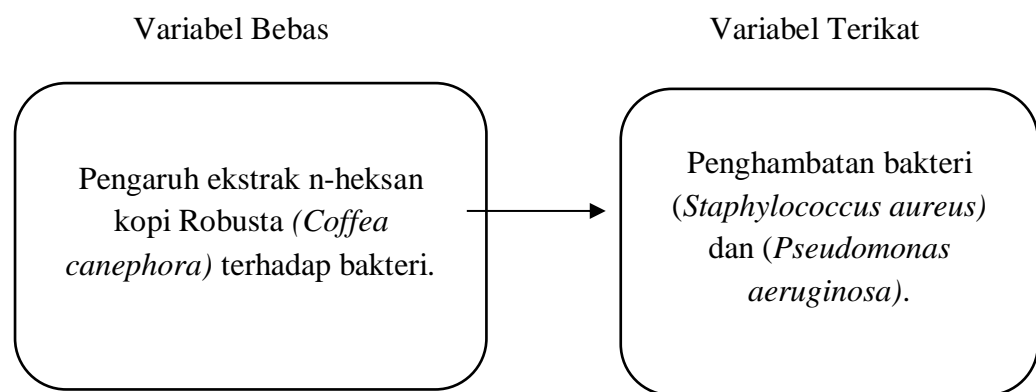
Keterangan:

: Variabel yang akan diteliti

: Variabel yang tidak diteliti

2.10 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep penelitian ini dengan judul potensi ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) lampung sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*).



Gambar 11. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini dilakukan untuk melihat potensi ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri (*staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*). Metode yang digunakan dalam data penelitian adalah berupa ekstraksi kopi robusta dengan menggunakan metode soxhletasi menggunakan pelarut n-heksan digunakan metode DPPH dan metode Uji Difusi Cakram dengan metode *Kirby-bauer* sebagai tolak ukur untuk mengetahui adanya aktivitas ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Senyawa yang akan diidentifikasi untuk analisis fitokimia diarahkan pada golongan flavonoid, tannin, terpenoid, steroid, saponin, dan alkaloid.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di beberapa tempat berdasarkan tahapan penelitian. Tahapan determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Tahapan pembuatan ekstrak kopi dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung dan Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Uji analisis fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Uji antibakteri pada penelitian ini dilakukan pada bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*) akan diberi perlakuan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2022 sampai Desember 2022.

3.3 Sampel dan Preparasi Sampel

3.3.1 Sampel

Sampel penelitian menggunakan biji kopi robusta Lampung (*El's Coffee*). Sampel yang dipilih adalah biji kopi robusta yang berkualitas baik dan sudah terstandar.

3.3.2 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan merupakan ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh dari ekstraksi dengan menggunakan metode soxhletasi. Untuk mendapatkan ekstrak sampel digiling terlebih dahulu agar didapatkan simplisia. Kemudian, dilakukan proses soxhletasi dengan menggunakan pelarut n-heksan. Untuk mendapatkan ekstrak kental dilakukan proses penguapan pelarut hasil dari proses soxhletasi, dengan menggunakan *Rotary Evaporator*.

3.4 Bahan dan Alat Penelitian

3.4.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu :

Biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung, pelarut n-heksan, mikroorganisme berupa patogen Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan patogen Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*) yang disediakan oleh Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung, ekstrak n-heksan kopi robusta, aquades, pereaksi Lc Bouchart, pereaksi FeCl₃, mayer, pereaksi HCl Pekat, *1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil* sebagai penguji antioksidan, n-heksan sebagai pelarut untuk ekstraksi, kopi robusta sebagai bahan uji, ekstrak kopi robusta, aquades steril, DMSO 5%, ciprofloxacin (2 mg/mL), *mueller hinton agar*, *Tryptic Soy Agar* (TSA), dan mikroorganisme uji yaitu patogen Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan patogen Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*).

3.4.2 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan pada penelitian ini, yaitu :

Neraca analitik untuk menimbang berat sampel, rotary evaporator untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut, gelas ukur, labu ukur, *erlenmeyer*, batang pengaduk, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kertas saring, aluminium foil, gunting, mistar, buku catatan, pensil, kamera ponsel, *rotary evaporator* refluks kaca khusus untuk ekstraksi pelarut organik, labu alas bulat sebagai wadah pelarut, kondensor sebagai pendingin uap saat ekstraksi, timbal sebagai tempat untuk sampel, pipa F sebagai wadah yang mengalirkan uap menuju ke kondensor, *heating mantle* sebagai pemanas larutan, autoklaf, *laminar air flow*, *hot plate*, inkubator, mikropipet, bunsen,

pipet volume, *blue tip*, *yellow tip*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, kapas lidi steril, dan jarum ose.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.5.2 Pemilihan Kopi Robusta

Sampel yang dipilih merupakan biji kopi robusta yang memiliki kualitas baik dan telah terstandarisasi di pasar di wilayah kota Bandar Lampung. Maka dari itu dipilih biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung (*El's Coffee*).

3.5.3 Pengekstrakan Kopi Robusta dengan metode soxhletasi

Ekstrak kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung (*El's Coffee*) di soxletasi menggunakan pelarut n-heksan. Bubuk kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung (*El's Coffee*) ditimbang sebanyak 30 gram kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas saring dan dikunci dengan menggunakan tali pada sisi atas dan bawah hingga menyerupai permen. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam timbal (Tempat untuk sampel pada alat soxhletasi) setelah itu pelarut n-heksan dimasukkan ke dalam alat soxhletasi sebanyak 130 ml. Selanjutnya, hidupkan *Heating Mantle* dan biarkan proses soxhletasi berlangsung hingga beberapa siklus sampai diperoleh ekstrak yang diinginkan. Ekstrak yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga menghasilkan ekstrak kental.

3.5.4 Analisis kualitatif Fitokimia

Pengecekan kandungan senyawa yang terdapat dalam sampel dilakukan secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan beberapa pereaksi larutan. Skrining kualitatif dilakukan untuk pengujian biokimia seperti pengujian ada tidaknya kandungan senyawa fenol, flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, terpenoid, kumarin, antosianin dan antrakuinon (Hashmi et al., 2021). Skrining fitokimia atau penapisan fitokimia merupakan pengujian awal dalam menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas biologi pada suatu tumbuhan. Analisis skrining fitokimia bertujuan untuk memprediksi kemungkinan golongan senyawa aktif yang bekerja terhadap aksi antioksidan dan antibakteri. (Nainggolan, 2019).

Standar protokol analisis fitokimia dari fitokimia, yang dilakukan dimana setiap fraksi dianalisis untuk mendeteksi keberadaan fitokimia, (Harborne, 1996):

1. Uji Saponin

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil \pm 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin.

2. Uji Steroid / Triterpenoid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan CH₃COOH glasial sebanyak 10 tetes dan 2 tetes H₂SO₄. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

3. Uji Tannin

- Uji Reagen Alkaline : 2 ml NaOH ditambahkan ke dalam 2 ml ekstrak. Adanya tanin dipastikan jika terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah.
- Uji FeCl₃: Sebanyak 2 mL FeCl₃ 5% direaksikan dengan 1 mL ekstrak tumbuhan. Adanya tanin diwakili oleh warna hitam kehijauan atau biru tua

4. Uji Alkaloid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL ammonia lalu disaring. Filtrat ditambahkan 3 sampai 5 tetes H₂SO₄ pekat lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi asam diambil, kemudian ditambahkan pereaksi Mayer dan Dragendorff masing-masing 4-5 tetes. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih, dan pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna kuning-merah.

5. Uji Flavonoid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan dengan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

Dalam penelitian ini dilakukan analisis kualitatif fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit dalam ekstrak n-heksan kopi Robusta (*Coffea canephora*). Dengan adanya sedikit modifikasi, analisis kualitatif fitokimia yang perlu dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Uji senyawa saponin
Sebanyak 0,5 ml sampel dilarutkan dengan 5 ml aquadest. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa.
2. Uji senyawa steroid
Sebanyak 0,5 ml sampel diteteskan Lieberman Bouchart sebanyak 10 tetes. Adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu atau biru.
3. Uji senyawa tannin
Sebanyak 0,5 ml sampel dicampur dengan 6 tetes FeCl_3 . Jika mengandung senyawa tanin, maka akan terbentuk warna hitam kebiruan.
4. Uji senyawa alkaloid
Sebanyak 0,5 ml sampel ditambahkan dengan pereaksi mayer sebanyak 5 tetes. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan perubahan warna menjadi putih atau kecoklatan.
5. Uji senyawa flavonoid
Sebanyak 0,5 ml sampel ditambahkan 5 ml HCl Pekat. Jika mengandung senyawa flavonoid akan terbentuk warna merah atau kuning dan ada busa (Harborne, 1996).

3.5.5 Pengukuran Total Fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan dengan menggunakan uji *Folin-Ciocalteu*. Metode *Folin-Ciocalteu* adalah pengujian berbasis transfer elektron, yang memberikan kapasitas reduksi yang dinyatakan sebagai kandungan fenolik. Kandungan total fenolik ekstrak tumbuhan dan hasilnya tergantung pada pelarut yang dipilih untuk ekstraksi (Noreen et al., 2017). Pengujian ini dilakukan dengan cara, 200 μl larutan ekstrak kasar dicampur dengan 1 ml reagen *Folin-Ciocalteu*, kemudian ditambahkan 0,8 ml natrium karbonat (7,5%). Selanjutnya campuran diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit, dan diukur pada 640 nm

menggunakan spektrofotometer. Pengujian total fenolik dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Hasil akhir dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/g sampel.

3.5.6 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan kopi robusta dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*) dengan adanya sedikit modifikasi pada pengujian. Metode ini dikembangkan dengan tujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas yang stabil, *1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil* (DPPH; $C_{18}H_{12}N_5HA_{16}$, $M = 394.33$). Pengujian DPPH merupakan metode yang valid, akurat, mudah dan ekonomis untuk mengevaluasi aktivitas penangkapan radikal antioksidan, karena senyawa radikal stabil (Kedare & Singh, 2014). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan (Tristantini et al., 2016). Di antara banyaknya metode penangkal radikal bebas, metode *1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil* (DPPH) dipilih karena lebih cepat dan sederhana (yaitu tidak melibatkan banyak langkah dan reagen) serta murah dibandingkan dengan model uji lainnya. (Dontha, 2016).

Pengukuran aktivitas antioksidan pada kopi robusta, dengan adanya sedikit modifikasi yaitu 2 ml DPPH 0,1 mm ditambah dengan 1 ml presipitasi kental dengan konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$; 40 $\mu\text{g/ml}$, 60 $\mu\text{g/ml}$; 80 $\mu\text{g/ml}$ dan 100 $\mu\text{g/ml}$. Campuran selanjutnya dikocok dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit ditempat gelap. Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya pada λ_{maks} 517 nm. Aktivitas penangkapan radikal DPPH ditentukan dengan menggunakan kurva konsentrasi standar penghambatan radikal % DPPH (penghambatan radikal % DPPH = $(1 - \text{absorbansi sampel/absorban blanko}) \times 100$). Nilai IC_{50} (50% *Inhibitory*

Concentration) ditentukan dengan analisis probit dari data log konsentrasi dengan probit persentase pengikatan radikal bebas.

3.5.7 Aktivitas Antibakteri dengan Uji Difusi Cakram

Sebelum dilakukan pengujian pada bakteri, perlu dilakukan kultur stok bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*) dengan cara diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37⁰C. Aktivitas antimikroba dari ekstrak uji ditentukan dengan uji difusi cakram. Kemudian bakteri diambil satu koloni dan diinkubasi selama 2-4 jam. Selanjutnya, aliquot 0,1 ml mikroorganisme uji disebar di atas permukaan pelat agar-agar. Kemudian, silinder *stainless steel* ditaruh diatas media agar yang telah diinokulasi dan ditambahkan sebanyak 50 uL masing-masing ekstrak uji (2 mg/ml; 1 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,25 mg/ml), untuk kontrol negatif digunakan DMSO (*Dimetilsulfoxid*) 5% dan ciprofloxacin (2 mg/ml) sebagai antibiotik referensi. Lalu, pelat agar-agar diinkubasi pada 37⁰C selama 18 jam, setelah itu diameter (satuan: mm) dari setiap zona hambat diukur sebagai perbedaan antara diameter ekstrak dan kontrol negatif (DMSO 5%).

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pengaruh ekstrak kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*). Dengan komponen senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak n-heksan kopi robusta dengan perbandingan konsentrasi 2 mg/ml: 1mg/ml: 0,5 mg/ml: 0,25 mg/ml.

3.6.2 Variabel Terikat

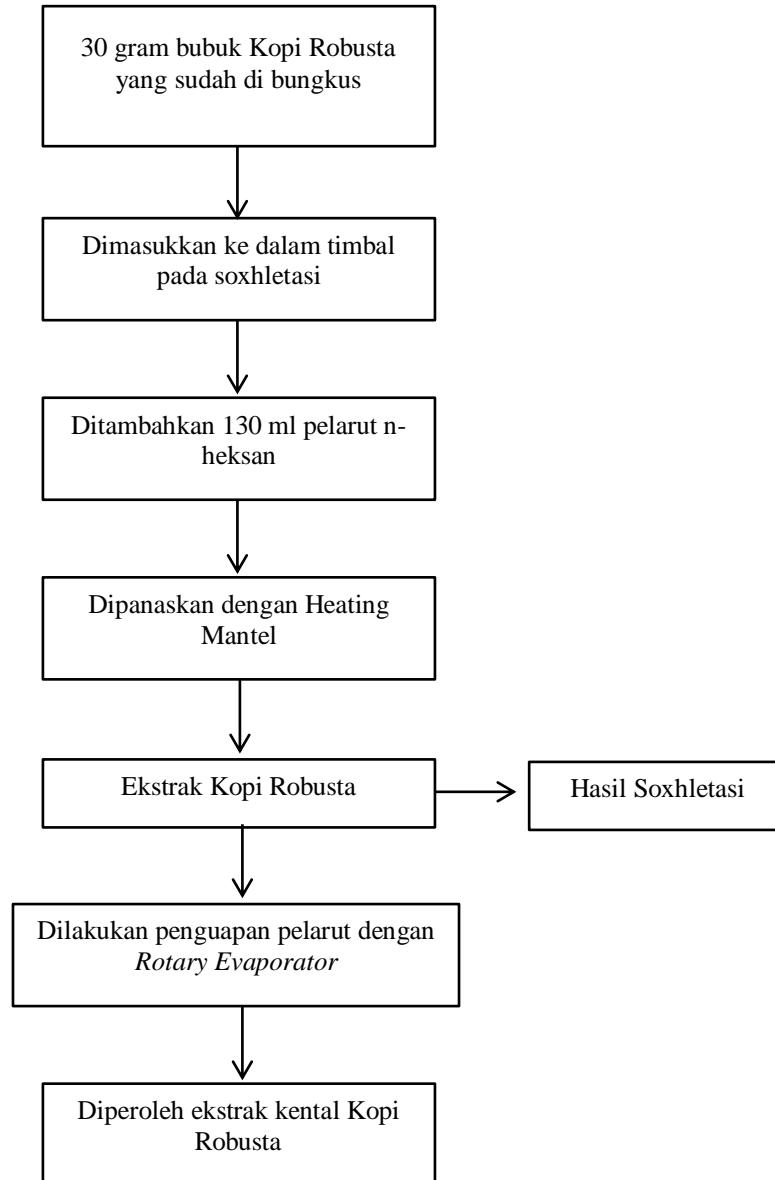
Variabel terikat pada penelitian ini adalah lebar diameter zona hambat yang terbentuk oleh senyawa uji ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar senyawa uji yang terdapat pada media agar-agar sebagai parameter menentukan adanya daya hambat pertumbuhan bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*) dan kandungan aktivitas antioksidan pada kopi robusta dengan parameter nilai IC_{50} , semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan. Antioksidan dikatakan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, lemah (151-200), sedang (100-150), dan kuat (50-100) (Tristantini et al., 2016).

3.7 Analisis Data

Analisis data aktivitas antioksidan pada penelitian ini akan diambil data-data untuk melakukan pengolahan sehingga data tersebut dapat dianalisa. Teknik pengolahan data dilakukan dengan membandingkan konsentrasi dengan nilai % aktivitas antioksidan masing-masing sampel dalam sebuah grafik regresi. Dan untuk analisis data uji antibakteri dilakukan secara deskriptif dengan cara melakukan pengamatan berupa pengukuran zona hambat pada daerah yang berwarna bening, yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi ekstrak n-heksan kopi robusta terhadap pertumbuhan bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Pseudomonas aeruginosa*).

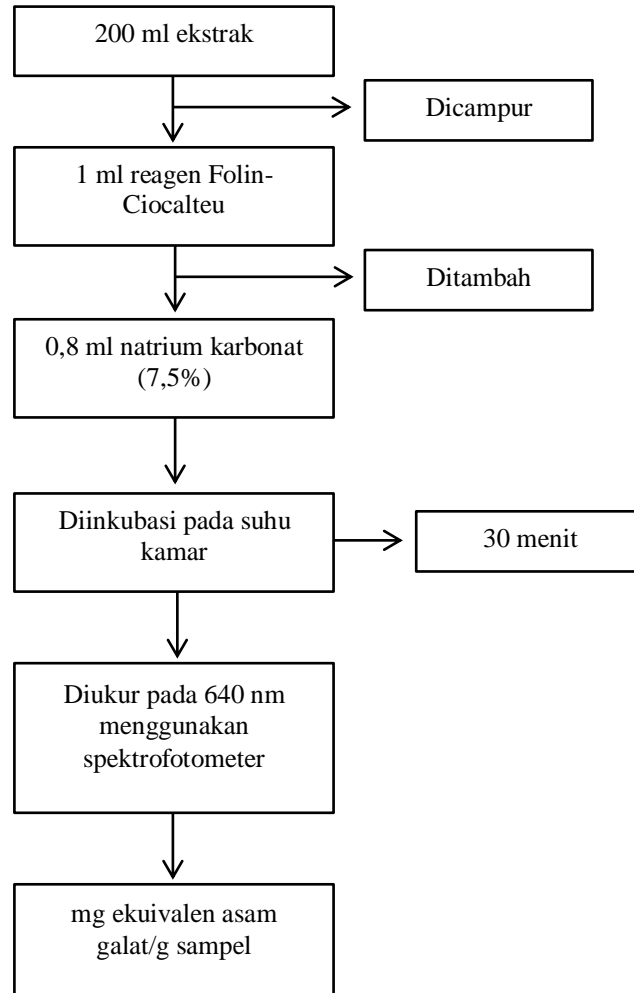
3.8 Diagram Alur Penelitian

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Menggunakan Metode Soxhletasi



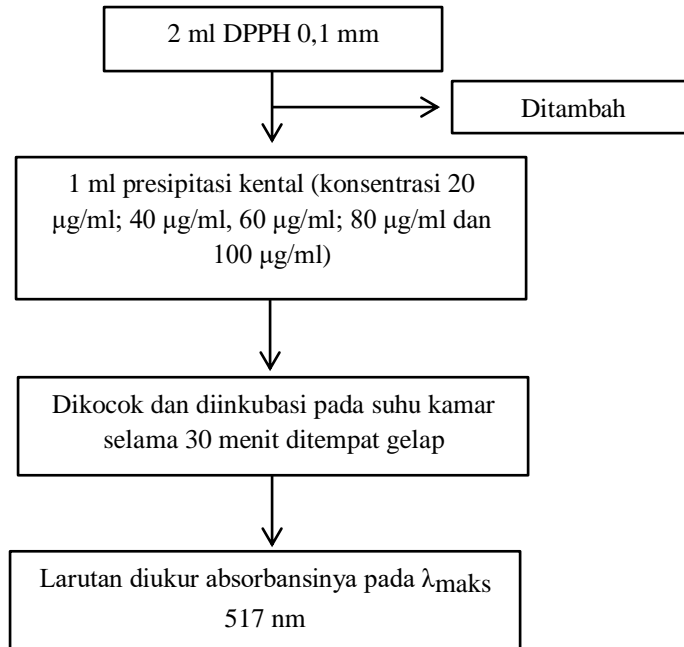
Gambar 12. Bagan Pembuatan Ekstrak

3.8.2 Pengukuran Total Fenolik



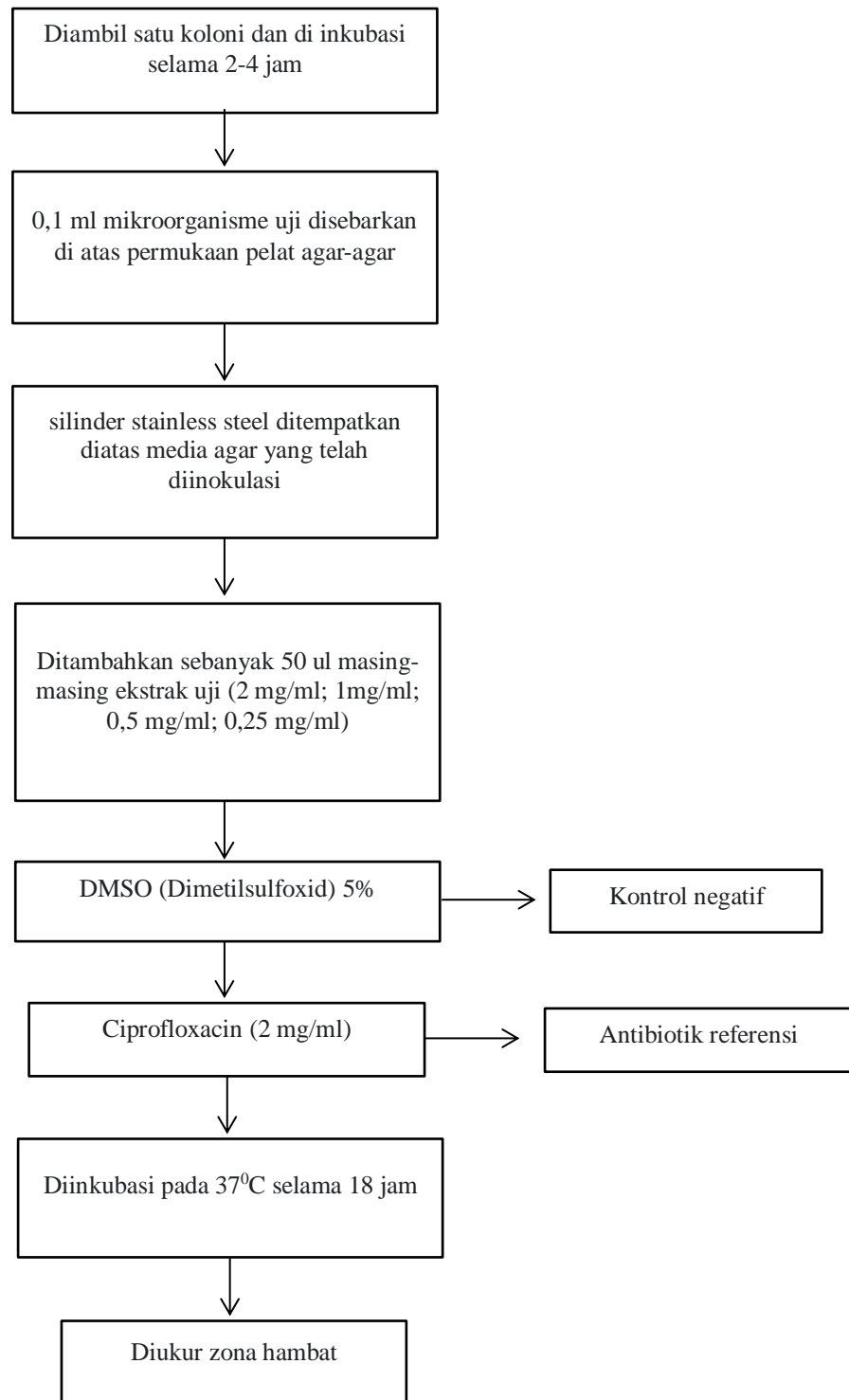
Gambar 13. Bagan Pengukuran Total Fenolik

3.8.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan



Gambar 14. Bagan Pengukuran Aktivitas Antioksidan

3.8.4 Pengujian Aktivitas Antibakteri



Gambar 15. Bagan Pengujian Aktivitas Antibakteri

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada uji kualitatif fitokimia ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung, mengandung senyawa metabolit primer berupa kandungan senyawa tanin, flavonoid, dan steroid.
2. Ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung memiliki efek antioksidan yang lemah dengan kadar IC_{50} sebesar $447,36 \pm 31,71$ $\mu\text{g/ml}$.
3. Ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung dengan konsentrasi kadar 0,25 mg/ml ; 0,5 mg/ml; 1mg/ml; 2 mg/ml tidak dapat menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri (*Staphylococcus aureus*) jika dibandingkan dengan antibiotik ciprofloxacin 2 mg.
4. Ekstrak n-heksan kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung dengan konsentrasi kadar 0,25 mg/ml ; 0,5 mg/ml; 1mg/ml; 2 mg/ml tidak dapat menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*) jika dibandingkan dengan antibiotik ciprofloxacin 2 mg.

5.2 Saran

1. Perlu adanya studi pendahuluan dalam penentuan metode, pemilihan pelarut dan sampel pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan uji fitokimia secara kuantitatif untuk mengetahui kadar masing-masing kandungan senyawa metabolit yang lain yang ada dalam ekstrak n-heksan kopi robusta Lampung.

2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemilihan metode ekstraksi dan jenis penggunaan pelarut yang digunakan terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Activity, A., The, O. F., & Extract, S. 2019. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi Kulit Biji Kopi Robusta (Coffea canephora Pierre ex A . Froehner) Terhadap Pereaksi DPPH (1 , 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) ANTIOXIDANT Activity Of The Skin Extract Fraction Robusta Coffee Bean (Coffea canephora. 4(2), 41–50.*
- Alnsour, L., Issa, R., Awwad, S., Albals, D., & Al-Momani, I. 2022. Quantification of Total Phenols and Antioxidants in Coffee Samples of Different Origins and Evaluation of the Effect of Degree of Roasting on Their Levels. *Molecules*, 27(5).
- Aulifa, D. L., Caroline, M., Tristiyanti, D., & Budiman, A. 2020. Formulation of the serum gel containing green coffee bean (*Coffea robusta* l) extract as an antioxidant and tyrosinase enzyme inhibitor. *Rasayan Journal of Chemistry*, 13(4), 2346–2351.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436.
- Azzi, A. 2022. Oxidative Stress: What Is It? Can It Be Measured? Where Is It Located? Can It Be Good or Bad? Can It Be Prevented? Can It Be Cured? *Antioxidants*, 11(8), 1431.
- Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B. 2018. *How to manage Pseudomonas aeruginosa infections Risk factors for antimicrobial resistance in P . aeruginosa.*
- Bobková, A., Hudáček, M., Jakobová, S., Belej, L., Capcarová, M., Čurlej, J., Bobko, M., Árvay, J., Jakab, I., Čapla, J., & Demianová, A. 2020. The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee.

- Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 55(5), 495–500.
- Brar, S. K., Dhillon, G. S., & Soccol, C. R. 2014. Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals. *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals*, 9781461480(July), 1–504.
- Bravo, J., Monente, C., Juárez, I., De Peña, M. P., & Cid, C. 2013. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*, 50(2), 610–616.
- Budi, D., Mushollaeni, W., Yusianto, Y., & Rahmawati, A. 2020. Karakterisasi Kopi Bubuk Robusta (*Coffea canephora*) Tulungrejo Terfermentasi Dengan Ragi *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Agroindustri*, 10(2), 129–138.
- Busby, N. 2012. Divisions of labour: Maternity protection in europe. *Journal of Social Welfare and Family Law*, 22(3), 277–294.
- Chemistry, A. 2010. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 4(August), 1–4.
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., Otto, M., Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., Otto, M., Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. 2021. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus* Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus* ABSTRACT. *Virulence*, 12(1), 547–569.
- Conley, W., Meute, J., Webb, J., Goodman, D., & Maier, R. 2006. The capability of a 1.3-NA μ stepper using 3D EMF mask simulations. *Optical Microlithography XIX*, 6154(Gaze 1985), 61542Y.
- Diggle, S. P., & Whiteley, M. 2020. Microbe profile: *Pseudomonas aeruginosa*: Opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (United Kingdom)*, 166(1),
- Dontha, S. 2016. A review on antioxidant methods. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 14–32.
- Dwi Riastuti, A., Komarayanti, S., & Prasetyo Utomo, A. 2021. Karakteristik

- Morfologi Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Pascapanen Di Kawasan Lereng Meru Betiri Sebagai Sumber Belajar Smk Dalam Bentuk E-Modul. *Jurnal Ilmu Pendidikan*, 5(2), 1–13.
- Filomeni, G., De Zio, D., & Cecconi, F. 2015. Oxidative stress and autophagy: The clash between damage and metabolic needs. *Cell Death and Differentiation*, 22(3), 377–388.
- Francenia Santos-Sánchez, N., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. 2019. Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. *Antioxidants*, 1–28.
- Fuente-nu, D., & Breidenstein, E. B. M. 2011. *Pseudomonas aeruginosa* : all roads lead to resistance. 19(8), 419–426.
- Haedi, N. 2022. Mechanisms of Action and Mechanism. *Department of Chemistry, Universty of Harvard, Cambridge, USA*, 11(6), 2022.
- Handajani, A., Betty, R., & Herti, M. 2010. Faktor-Faktor yang Berhubungan Dengan Pola Kematian pada Penyakit Degeneratif di Indonesia. *Jurnal Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 13(1), 42–45.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia*. edisi kedua. ITB. Bandung.
- Hasanah, M., Maharani, B., & Munarsih, E. 2017. Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 42.
- Hashmi, H. F., Bibi, S., Anwar, M., & Rashid Khan, M. 2021. Qualitative and Quantitative Analysis of Phytochemicals in *Lepidium Pinnatifidum* Ledeb. *Sch Int J Tradit Complement Med*, 4(5), 67–75.
- Hastuti, D. S. 2018. Kandungan Kafein Pada Kopi dan Pengaruh Terhadap Tubuh. *Media Litbangkes*, 25(3), 185–192.

- Ji, L. L., & Yeo, D. 2021. Oxidative stress: an evolving definition. *Faculty Reviews*, 10, 1–6.
- Kang, C. I., Song, J. H., Ko, K. S., Chung, D. R., & Peck, K. R. 2011. Clinical features and outcome of *Staphylococcus aureus* infection in elderly versus younger adult patients. *International Journal of Infectious Diseases*, 15(1), e58–e62.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. 2014. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422.
- Klorogenat, A., Bubuk, K., Coffea, R., & Di, L. (2017). *Karakteristik sensori, kandungan kafein, dan asam klorogenat kopi bubuk robusta* (. 2002, 10–11.
- Kwiecinski, J. M., & Horswill, A. R. 2020. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. *Current Opinion in Microbiology*, 53, 51–60.
- Lestari, D. Y., Setiawan, M., Baihaqi, L., & Student, M. 2017. *The Effect of Robusta (Coffea canephora var . Robusta) Coffee Brew on Pulmonary Histopathological Changes in Male Wistar Strain White Rats (Rattus norvegicus)*. 10(ICHLaS), 84–86.
- Leverve, X. 2009. Oxidative, stress and antioxidants? *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 44(5), 219–224.
- Lin, J., Lin, D., Xu, P., Zhang, T., Ou, Q., Bai, C., & Yao, Z. 2016. Non-hospital environment contamination with *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: proportion meta-analysis and features of antibiotic resistance and molecular genetics. *Environmental Research*, 150,
- Marcelinda, A., & Ridhay, A. 2016. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Ari Biji Kopi (*Coffea* sp) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. *Online Jurnal of Natural Science*, 5(1), 21–30.
- Mewaba, S. G., Happi, E. N., Nangmou, B. M. N., Langat, M. K., Siddique, H., Sadgrove, N., Kamdem, A. F. W., Vardamides, J. C., Mas-Claret, E., Isyaka,

- S. M., Rotich, W., & Azebaze, B. G. A. 2022. Antibacterial compounds of the cultivated Robusta coffee: *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner. *Scientific African*, 16, e01274.
- Mukhtarini. 2014. Mukhtarini, “Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif,” *J. Kesehat.*, vol. VII, no. 2, p. 361, 2014. *J. Kesehat.*, VII(2), 361.
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., & Teixeira, J. A. 2011. Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661–672.
- Myo, H., & Khat-udomkiri, N. 2022. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from coffee pulp using propylene glycol as a solvent and their antioxidant activities. *Ultrasonics Sonochemistry*, 89(August), 106127.
- Nainggolan, M. 2019. *Penuntun dan laporan praktikum*.
- Nesteruk, K. M., Sokolova, I. E., & Bratus, O. V. 2011. Розповсюдження карбапенемрезистентних штамів *Pseudomonas aeruginosa* – продуцентів метало- β -лактамаз. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, Medicine*, 2(1), 95–100.
- Ni'mah, M. W., Hasbullah, U. H. A., & Retnowati, E. I. (2021). Production of Robusta Instant Coffee Powder with Variation of Fillers. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 15(3), 932–942. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v15i3.10629>
- Noreen, H., Semmar, N., Farman, M., & McCullagh, J. S. O. 2017. Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(8), 792–801.
- Patel, K., Panchal, N., & Ingle, P. 2019. Techniques Adopted for Extraction of Natural Products Extraction Methods: Maceration, Percolation, Soxhlet

- Extraction, Turbo distillation, Supercritical Fluid Extraction. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*, 6(4), 1–12.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Preiser, J. C. 2012. Oxidative stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(2), 147–154.
- Rahman, T., Hosen, I., Islam, M. M. T., & Shekhar, H. U. 2012. Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 03(07), 997–1019.
- Rante, H., Subehan, Wulandari, R., & Evary, Y. M. 2021. Antibacterial activity of robusta coffee (*Coffea robusta* L.) peel extract against human pathogenic bacteria. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 9(Spl-2-ICOPMES_2020), S264–S268.
- Rasheed, N. A., Hussein, N. R., Region, K., Polytechnic, D., & Region, K. 2021. *Staphylococcus aureus*: An Overview of Discovery , Characteristics , Epidemiology , Virulence Factors and Antimicrobial Sensitivity. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 08(03), 1160–1183.
- Rasul, M. G. 2018. Extraction, Isolation and Characterization of Natural Products from Medicinal Plants. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing (IJBSAC)*, 6, 2394–367.
- Rosyidi, D., Qosimah, D., Amri, I. A., Prasetyo, D., Permata, F. S., Anisa, A. K., Putri, L. R., Cindyasputri, N. A., Wulandari, Leuricha, Y., & Radiati, L. E. 2020. Effect of robusta coffee from lampung (*Coffea canephora*) to relative number of Ho-1, Nrf2 and duodenum tissue histopathology in chicken. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 8(4), 422–427.
- Sari, M., Ibrahim, D., Penelitian, B., Industri, T., Raya, J., Km, P., & Indonesia, S.

2020. *Tujuh Klon Unggul Kopi Robusta*. 7, 73–82.

- Setiawan, E. A., Rahardian, D., & Siswanti. 2015. Pengaruh Penyaringan Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Karakteristik Kimia dan Sensory Minuman Penyegar. *Jurnal Teknosains Pangan*, 4(2), 1–9. <https://jurnal.uns.ac.id/teknosains-pangan/article/view/4678/4062>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. 2015. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781.
- Sies, H. 2020. Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants*, 9(9), 1–6.
- Su, P. W., Yang, C. H., Yang, J. F., Su, P. Y., & Chuang, L. Y. 2015. Antibacterial activities and antibacterial mechanism of polygonum cuspidatum extracts against nosocomial drug-resistant pathogens. *Molecules*, 20(6), 11119–11130.
- Suhandy, D., & Yulia, M. 2021. Classification of lampung robusta Specialty coffee according to differences in cherry processing methods using UV spectroscopy and chemometrics. *Agriculture (Switzerland)*, 11(2), 1–11.
- Supriana, N., Ahmad, U., Samsudin, S., & Purwanto, E. H. 2020. Pengaruh Metode Pengolahan dan Suhu Penyangraian terhadap Karakter Fisiko-Kimia Kopi Robusta. *Jurnal Tanaman Industri Dan Penyegar*, 7(2), 61.
- Swami, H. S. et al. 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *International Center For Science and High Technology*.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Tegar Pradana, B., & Gabriel Jonathan, J. 2016. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*, 0(0), 1. <http://jurnal.upnyk.ac.id/index.php/kejuangan/article/view/1547>
- Utomo, D. S., Kristiani, E. B. E., & Mahardika, A. 2020. Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid, Fenolik, Klorofil, Karotenoid Dan

- Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*). *Bioma*, 22(2), 143–149.
- van Dam, R. M., Hu, F. B., & Willett, W. C. 2020. Coffee, Caffeine, and Health. *New England Journal of Medicine*, 383(4), 369–378. <https://doi.org/10.1056/nejmra1816604>
- Xu, X., & Li, X. 2014. *Cardiovascular diseases: oxidative damage and antioxidant protection*. 3091–3096.
- Zamharira Muslim, & Yonaniko Dephinto. 2019. Antibacterial Activity Of Robusta Coffee (*Coffea canephora L.*) Leaves To *Staphylococcus Aureus* And *Escherichia Coli*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 113–115.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. 2019. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–5.